

BỘ Y TẾ

SINH HỌC

(DÙNG CHO ĐÀO TẠO BÁC SĨ ĐA KHOA)

MÃ SỐ: Đ.01.X.09

NHÀ XUẤT BẢN GIÁO DỤC

HÀ NỘI - 2008

Chỉ đạo biên soạn:

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO - BỘ Y TẾ

Chủ biên:

GS.TS. TRỊNH VĂN BẢO

PGS.TS. TRẦN THỊ THANH HƯƠNG

PGS.TS. PHAN THỊ HOAN

Những người biên soạn:

GS.TS. TRỊNH VĂN BẢO

PGS.TS. TRẦN THỊ THANH HƯƠNG

PGS.TS. PHAN THỊ HOAN

TS. HOÀNG THỊ NGỌC LAN

PGS.TS. TRẦN THỊ LIÊN

PGS.TS. TRẦN ĐỨC PHẤN

PGS.TS. PHẠM ĐỨC PHÙNG

TS. NGUYỄN VĂN RỰC

TS. NGUYỄN THỊ TRANG

Thư ký biên soạn:

PGS.TS. PHAN THỊ HOAN

Tham gia tổ chức bản thảo:

ThS. PHÍ VĂN THÂM

TS. NGUYỄN MẠNH PHA

©Bản quyền thuộc Bộ Y tế (Vụ Khoa học và Đào tạo)

283 - 2008/CXB/20 - 635/GD

Mã số: 7K776Y8 - DAI

Lời giới thiệu

Thực hiện một số điều của Luật Giáo dục, Bộ Giáo dục & Đào tạo và Bộ Y tế đã ban hành chương trình khung đào tạo Bác sĩ đa khoa. Bộ Y tế tổ chức biên soạn tài liệu dạy - học các môn cơ sở và chuyên môn theo chương trình trên nhằm từng bước xây dựng bộ sách đạt chuẩn chuyên môn trong công tác đào tạo nhân lực y tế.

Sách SINH HỌC được biên soạn dựa vào chương trình giáo dục của Trường Đại học Y Hà Nội trên cơ sở chương trình khung đã được phê duyệt. Sách được các tác giả GS.TS. Trịnh Văn Bảo, PGS.TS. Trần Thị Thanh Hương, PGS.TS. Phan Thị Hoan, TS. Hoàng Thị Ngọc Lan, PGS.TS. Trần Thị Liên, PGS.TS. Trần Đức Phấn, PGS.TS. Phạm Đức Phùng, TS. Nguyễn Văn Rực, TS. Nguyễn Thị Trang biên soạn theo phương châm: kiến thức cơ bản, hệ thống; nội dung chính xác, khoa học, cập nhật các tiến bộ khoa học, kỹ thuật hiện đại và thực tiễn Việt Nam.

Sách SINH HỌC đã được Hội đồng chuyên môn thẩm định sách và tài liệu dạy - học chuyên ngành Bác sĩ đa khoa của Bộ Y tế thẩm định năm 2007. Bộ Y tế quyết định ban hành là tài liệu dạy - học đạt chuẩn chuyên môn của ngành trong giai đoạn hiện nay. Trong thời gian từ 3 đến 5 năm, sách phải được chỉnh lý, bổ sung và cập nhật.

Bộ Y tế xin chân thành cảm ơn các tác giả và Hội đồng chuyên môn thẩm định đã giúp hoàn thành cuốn sách; Cảm ơn GS.TS. Trương Đình Kiệt, TS. Nguyễn Trần Chiến đã đọc và phản biện để cuốn sách sớm hoàn thành kịp thời phục vụ cho công tác đào tạo nhân lực y tế.

Lần đầu xuất bản, chúng tôi mong nhận được ý kiến đóng góp của đồng nghiệp, các bạn sinh viên và các độc giả để lần xuất bản sau sách được hoàn thiện hơn.

VỤ KHOA HỌC VÀ ĐÀO TẠO - BỘ Y TẾ

Lời nói đầu

Sinh học là khoa học của sự sống.

Sự sống được hình thành và phát triển như thế nào đã là vấn đề không những các nhà chuyên môn mà cả nhân loại quan tâm. Ngoài Trái Đất, ở các hành tinh khác có sự sống không, nếu có thì sự sống ở đó ra sao, có sinh vật hay không - Còn rất nhiều vấn đề cần được nghiên cứu về sự sống trên Trái Đất và ở ngoài Trái Đất.

Với sự phát triển khoa học hiện nay, mỗi thành tựu, mỗi phát kiến khoa học, thường là kết quả của sự tích hợp của nhiều ngành khoa học có liên quan. Các thành tựu khoa học mới hầu hết đều có cơ sở là những kiến thức, những hiểu biết đã có được vận dụng ở mức cao hơn, sáng tạo hơn.

Trong thế kỷ thứ XIX, học thuyết tế bào được coi là một trong những phát kiến quan trọng của thế kỷ. Đến thế kỷ XX, sự phát hiện mô hình cấu trúc của ADN, ARN và hàng loạt phát kiến liên quan đã mở ra một cuộc cách mạng thực sự trong sinh học nói chung, trong di truyền học nói riêng. Thật đáng mừng đầu thế kỷ XXI hầu hết bộ gen của người đã được giải mã, các nhà khoa học sẽ áp dụng những hiểu biết này vào những lĩnh vực khác nhau nhằm phục vụ con người.

Sinh học nghiên cứu những đặc điểm, những nguyên lý chung nhất của sinh giới, những quy luật, những cơ chế của sự sống. Con người - sinh vật được coi là cao cấp nhất cũng chịu sự chi phối của những quy luật, những cơ chế đó. Nhưng cơ thể con người có những tính chất riêng khác với các sinh vật khác. Môn sinh học trong chương trình đào tạo của trường Y phải đảm bảo những nguyên lý cơ bản của sinh học nói chung, và thích hợp với chương trình đào tạo của Y học.

Sinh học giúp cho y học tiến bộ. Lịch sử đã chứng minh rằng những bước tiến bộ của y học đều xuất phát từ các cuộc cách mạng sinh học và các môn khoa học cơ bản khác.

Cuốn sách này được biên soạn nhằm cung cấp cho các học viên học theo chương trình đào tạo bác sĩ đa khoa những nguyên lý cơ bản nhất của Sinh học ứng dụng trong Y học, tạo cơ sở để học viên học tiếp các môn học của Y học cơ sở và lâm sàng.

Trong sinh học nói chung, y học nói riêng những hiểu biết về tế bào học, về di truyền học, về sinh học phát triển, về các nguyên lý sinh thái và về sự tiến hóa của chất sống và sinh giới, là cơ sở khoa học để vận dụng vào các ngành khoa học khác nhau. Một ngành khoa học chỉ có sức sống khi biết vận dụng các kiến thức vào thực tiễn để nâng cao trình độ hơn, tác dụng tốt hơn. Sách gồm 5 chương tương ứng với những vấn đề trên mỗi chương gồm 2 - 6 Bài, mỗi Bài tương ứng từ 2 – 4 tiết học, trong đó có Bài sinh viên tự đọc. Mỗi Bài đều có mục tiêu và tự lượng giá để sinh viên tập trung vào những nội dung cơ bản nhất.

Các tác giả của cuốn sách này là những Giáo sư, Phó giáo sư, tiến sĩ, các giảng viên lâu năm của chuyên ngành Y sinh học – Di truyền. Đặc biệt là cố GS.TS. Trịnh Văn Bảo người có công lớn trong việc chủ biên và biên soạn cuốn sách này.

Chúng tôi đã cập nhật những kiến thức mới, những thành tựu đã đạt được trong lĩnh vực sinh học nói chung và đã chọn lọc để thích hợp với chương trình đào tạo Y học. Tuy nhiên cuốn sách chắc chắn chưa đáp ứng được yêu cầu của nhiều bạn đọc, rất mong sự góp ý của bạn đọc và đồng nghiệp.

Thay mặt ban biên soạn

PGS.TS. TRẦN THỊ THANH HƯƠNG
TRƯỞNG BỘ MÔN Y SINH HỌC – DI TRUYỀN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

NST	Nhiễm sắc thể
ADN	Acid deoxyribonucleic
ARN	Acid ribonucleic
Hb	Hemoglobin
PCR	(Polymerase chain reaction): phản ứng chuỗi polymerase
FISH	(Fluorescence in situ hybridization): lai tại chỗ huỳnh quang
PHA	Phytohemagglutinin
IQ	(Intelligence quotient): chỉ số trí tuệ
TDF	(Testis determining factor) yếu tố biệt hóa tinh hoàn (gen biệt hóa tinh hoàn)
HLA	(Human leukocyte antigen) hệ thống kháng nguyên bạch cầu người

Nu Nucleotid

BTBS Bất thường bẩm sinh

Chương 1

SINH HỌC TẾ BÀO

Bài 1

HỌC THUYẾT TẾ BÀO

CÁC PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU TẾ BÀO

MỤC TIÊU

1. Nêu được nội dung cơ bản của học thuyết tế bào.
2. Trình bày được các phương pháp nghiên cứu tế bào.

1. LƯỢC SỬ HÌNH THÀNH TẾ BÀO HỌC - HỌC THUYẾT TẾ BÀO

Tế bào là đơn vị cơ bản của sự sống. Với kính hiển vi tự tạo độ phóng đại 30 lần, Robert Hooke (1665) là người đầu tiên quan sát mô bần thực vật, các mô bần thực vật được cấu tạo bởi các xoang nhỏ; ông gọi các xoang nhỏ có thành bao quanh là tế bào.

Antonie Van Leeuwenhoek (1674) với kính hiển vi độ phóng đại 270 lần đã mô tả tế bào động vật.

Đến thế kỷ XIX nhờ sự hoàn thiện của kỹ thuật hiển vi và các ngành khoa học khác đã làm nền tảng cho học thuyết tế bào của Mathias Schleiden và Theodo Schwann (1838 - 1839). Nội dung cơ bản của học thuyết tế bào này: mọi cơ thể sinh vật đều có cấu tạo tế bào.

F. Engel (1870) đã đánh giá học thuyết tế bào là một trong ba phát kiến vĩ đại của khoa học tự nhiên thế kỷ XIX (cùng với học thuyết tiến hóa và học thuyết chuyển hóa năng lượng). Từ đây môn tế bào học đã trở thành một khoa học thực sự nghiên cứu cấu trúc, chức năng của tế bào.

Theo quan niệm hiện đại thuyết tế bào gồm những nội dung cơ bản:

- Mọi sinh vật đều gồm một hoặc nhiều tế bào, trong đó xảy ra các quá trình chuyển hóa vật chất và tồn tại tính di truyền.

- Tế bào là sinh vật sống nhỏ nhất, đơn vị tổ chức cơ bản của mọi cơ thể.

- Tất cả tế bào đều được sinh ra từ tế bào có trước.

Cấu trúc cơ bản của tế bào gồm 3 phần:

- Mọi tế bào đều được màng sinh chất bao quanh.

- Mọi tế bào đều có nhân hoặc nguyên liệu chứa thông tin di truyền.

- Mọi tế bào đều chứa tế bào chất.

Các tế bào có cấu trúc chung, nhưng các nhóm tế bào tiến hóa theo những hướng khác nhau, cấu tạo

biến đổi theo các phương thức khác nhau.

2. CÁC PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU TẾ BÀO

Ngày càng có nhiều phương pháp nghiên cứu cấu trúc và chức năng của tế bào. Sau đây là những nguyên tắc của một số phương pháp cơ bản.

2.1. Hiển vi quang học

2.1.1. Nguyên lý

Kích thước của tế bào và các thành phần trong tế bào rất nhỏ nên phải tìm cách phóng đại chúng lên để quan sát được. Phương pháp hiển vi quang học là phương pháp nhờ vào khả năng phóng đại của các thấu kính được sắp xếp thành kính hiển vi mà người sáng lập là Robert Hooke (1665). Khả năng phóng đại của kính là từ vài trăm lần đến vài nghìn lần. Kích thước qua kính hiển vi quang học gọi là kích thước hiển vi, đơn vị hiển vi là micromet. Khả năng phân tách được hai điểm cạnh nhau cũng ở mức độ micromet.

Về nguyên lý, muốn cho hai điểm cạnh nhau được trông thấy tách biệt nhau dưới kính hiển vi quang học thì dĩ nhiên hai điểm đó đều phải được nhìn thấy cả. Lý thuyết tán xạ cho thấy: hai hình ảnh sẽ thấy tách biệt nhau nếu hai điểm cách nhau ít nhất bằng ϵ

$$\epsilon = \frac{0,61 \lambda}{n \sin \alpha}$$

ϵ là khả năng phân tách của kính, nghĩa là khoảng cách nhỏ nhất thấy giữa hai điểm qua kính hiển vi quang học, λ là độ dài bước sóng ánh sáng phát ra từ mẫu vật, n là chỉ số chiết quang của môi trường giữa mẫu vật và vật kính, α là góc mở của vật kính. λ đã xác định bởi nguồn ánh sáng thấy, muốn giảm ϵ thì chỉ còn cách tăng $n \sin \alpha$. Trong số này góc mở α bị giới hạn bởi nhiễu xạ rất khó điều chỉnh, còn lại là chỉ số chiết quang n . Nhưng n không được cao hơn chỉ số chiết quang của các thấu kính trong vật kính nên người ta chỉ nâng n giữa mẫu vật và vật kính bằng một chất dầu gọi là dầu bách hương để đạt chỉ số chiết quang tối đa mong muốn bằng chỉ số chiết quang của thấu kính.

Kính hiển vi quang học cho tới nay vẫn dừng ở độ phóng đại lý thuyết là 3000 với bộ thấu kính: thị kính 20x, trung gian 1,5x, vật kính 100x. Trong thực tế thì độ phóng đại này không dùng vì tối và độ phóng đại thường dùng được với ánh sáng thấy là 1000 lần, với khoảng cách phân biệt được là 0,2 micromet. Những kính thật tốt dùng để nghiên cứu có thể soi đạt ở độ phóng đại 1500 lần.

Với kính hiển vi quang học ta có thể xem được tế bào sống và tế bào đã định hình.

2.1.2. Phương pháp làm tiêu bản và quan sát tế bào đã được định hình và nhuộm

Tiêu bản hiển vi có nhiều loại, tùy thuộc vào mục đích nghiên cứu và phương pháp hiển vi được sử dụng khi quan sát.

Các phương pháp làm tiêu bản hay được sử dụng: làm tiêu bản giọt ép, làm tiêu bản vết bôi, làm tiêu bản dầu quét, lát cắt. Sau khi trên phiến kính có mẫu vật, tiến hành định hình và nhuộm.

Định hình: nhằm mục đích giết nhanh tế bào để cố định tất cả các cấu trúc của nó có hình dạng giống như lúc sống không bị phá hủy. Có nhiều chất và hỗn hợp định hình với các cơ chế cũng như tác dụng khác nhau. Tùy thuộc vào từng đối tượng và mục đích mà cần lựa chọn chất và thời gian định hình phù hợp. Để định hình, người ta dùng sức nóng hay đông lạnh, hay các hóa chất như alcol, các muối kim

loại nặng như platin clorua, thủy ngân biclorua, các acid như acid axetic, acid picric, acid cromic, acid formic. Mẫu vật tế bào sau khi định hình, nếu dày quá thì phải cắt thành những lát mỏng khoảng vài micromet, sau đó nhuộm bằng các chất màu thích hợp.

Nhuộm: có nhiều loại thuốc nhuộm khác nhau. Theo nguồn gốc: nhóm có nguồn gốc thực vật, nhóm có nguồn gốc động vật, nhóm thuốc nhuộm tổng hợp. Theo bản chất hóa học: thuốc nhuộm acid, thuốc nhuộm base, thuốc nhuộm trung tính. Khi nhuộm có thể dùng một loại thuốc nhuộm (nhuộm đơn) hay hai loại trở lên (nhuộm kép, nhuộm phức). Thuốc nhuộm thường được pha trong cồn hay trong nước cất tùy mục đích. Đối với mỗi đối tượng cần lựa chọn loại thuốc nhuộm, thời gian nhuộm, phương pháp nhuộm thích hợp.

2.1.3. Phương pháp quan sát tế bào sống

Muốn xem tế bào sống phải đặt tế bào trong môi trường lỏng giống hay gần giống với môi trường sống tự nhiên của nó. Một số bộ phận của tế bào sống có chỉ số chiết quang bằng nhau nên quan sát theo phương pháp bình thường không thể thấy được, nhưng khi cải biến chút ít bằng các phụ kiện để tạo thành kính hiển vi nền đen hay kính hiển vi đối pha thì có thể thấy rõ ràng hơn các bộ phận khác nhau. Để quan sát những bào quan và những vật thể trong tế bào có cấu trúc tương tự cấu trúc của tinh thể, người ta dùng kính hiển vi phân cực. Tế bào xem sống cũng có thể nhuộm sống để tăng độ chiết quang của các phần khác nhau. Chất màu nhuộm phải loãng, không độc hoặc ít độc. Các phẩm nhuộm thường dùng là đỏ trung tính, xanh janus, lục trypan, lục methyl, đỏ trypan.

2.1.3.1. Hiển vi đối pha: là phương tiện được dùng rộng rãi trong việc quan sát tế bào mô sống.

Hiện vi đối pha dựa trên nguyên tắc các cấu trúc sinh học có tính chất chiết quang, có khả năng biến đổi pha của tia sáng đi qua. Các biến đổi này khác nhau ở những phần có chỉ số chiết quang và độ dày khác nhau, ở những phần có chỉ số khúc xạ cao hơn thì ánh sáng bị giữ chậm lại tạo nên sự lệch pha. Ở một số bộ phận của tế bào sống có chỉ số chiết quang gần bằng nhau thì sự khác biệt này chưa đủ để có thể phân biệt hình ảnh dưới hiển vi thường.

Trong hiển vi đối pha người ta đặt các bản pha là bản mỏng trong suốt có gắn với một gờ nổi hình vòng có dạng và kích thước trùng với màn chắn hình vòng của tụ quang. Bản pha được đặt ở mặt phẳng tiêu cự sau vật kính, do vậy sự lệch pha nhỏ cũng được chuyển thành sự sai khác về biên độ làm cho chúng ta có thể quan sát bằng mắt được hay chụp ảnh.

2.1.3.2. Hiển vi giao thoa: nguyên tắc cũng tương tự như hiển vi đối pha.

2.1.3.3. Hiển vi phân cực: trong kính hiển vi phân cực có bộ phận phân cực, kính phân cực, kính phân tích giúp ta quan sát rõ một số thành phần trong tế bào mà cấu tạo có sự phân cực, không cùng hướng.

2.1.3.4. Hiển vi nền đen: loại kính hiển vi này có vị trí của bộ phận tụ quang khác với hình hiển vi thường, ánh sáng đi vào vật kính là tia tán xạ, ta có thể quan sát các hình ảnh của vật trên nền tối.

2.1.3.5. Hiển vi huỳnh quang: nguồn sáng của kính hiển vi huỳnh quang là đèn thủy ngân tạo ra các tia tím, nhờ hệ thống gương lọc ánh sáng và gương tán sắc đặc biệt sẽ phản chiếu lên bản quan sát những tia bước sóng ngắn. Các tia đó có tác dụng gây ra hiện tượng huỳnh quang và làm cho bản quan sát phát ra những tia sáng huỳnh quang có bước sóng dài hơn. Độ dài bước sóng bức xạ huỳnh quang luôn luôn dài hơn độ dài bước sóng bức xạ gây ra nó. Một số vật có khả năng phát huỳnh quang. Tuy nhiên một số chất chỉ phát sáng sau khi được nhuộm huỳnh quang.

Ví dụ: người ta sử dụng quinacrin và một số dẫn xuất để phát hiện các băng huỳnh quang trên nhiễm sắc thể và vật thể giới Y ở tế bào lúc gian kỳ.

Trong nghiên cứu cấu trúc phân tử, sự vận chuyển qua màng, xác định vị trí trung thể trong tế bào, để nghiên cứu hoạt động ADN, ARN ta có thể đưa hợp chất huỳnh quang vào cơ thể sống và sử dụng phương pháp này để nghiên cứu.

2.2. Hiển vi điện tử

Kính hiển vi điện tử giúp ta thấy được hình ảnh của mẫu vật trên một màn huỳnh quang hoặc trên bản phim chụp ảnh. Về nguyên lý cũng tương tự như kính quang học phải có các chùm tia. ở đây không phải là ánh sáng mà là chùm tia điện tử. Các chùm tia điện tử có bước sóng vô cùng ngắn được khuếch đại bởi các thấu kính điện hoặc từ để cuối cùng đập lên một màn huỳnh quang hoặc phim ảnh cho hình ảnh của mẫu vật.

Độ phóng đại của kính điện tử rất lớn tới 5 vạn hoặc 10 vạn lần. Khoảng cách phân biệt được tính bằng angstrom. Những kính tốt nhất hiện nay được dùng đã phân tách được hai điểm cách xa nhau 2 angstrom. Khoảng cách tối thiểu này chưa dừng lại. Hiển vi điện tử hiệu ứng đường hầm đã đưa khoảng cách này xuống khoảng 1 angstrom. Mẫu soi trên kính hiển vi phải càng mỏng càng tốt. Mẫu vật thường có độ dày 0,02 - 0,1 micromet.

Sự tiến bộ của khoa học kỹ thuật mới nhất của kính hiển vi điện tử không phải chỉ là vấn đề độ phóng đại mà còn là ở những hình ảnh nổi cho phép thấy được ảnh có chiều sâu, có độ lồi lõm phức tạp. Phương pháp này gọi là phương pháp hiển vi điện tử quét. Ngày nay người ta còn sử dụng phương pháp hiển vi quét kết hợp với videocamera để thu được hình ảnh sống của tế bào.

2.3. Tự chụp hình phóng xạ

Phương pháp này dựa vào khả năng phát hiện nhờ phim ảnh, các chất phóng xạ nhân tạo lúc cho các chất này vào trong tế bào nuôi cấy hoặc vào cơ thể sống. Các chất đồng vị phóng xạ thường dùng là ¹⁴C, ³⁵S, ³H, ³²P. Các nguyên tố phóng xạ được đưa vào các hợp chất thích hợp rồi đưa các hợp chất đó vào tế bào. Như ¹⁴C, ³⁵S đưa vào các acid amin để theo dõi sự tổng hợp protein, ³H (tritium) được đưa vào thymin hoặc uracyl để theo dõi sự tổng hợp ADN và ARN. Chất phóng xạ đem tiêm vào cơ thể sống hoặc cho vào môi trường nuôi cấy tế bào sẽ xâm nhập vào tế bào và nằm ở vị trí theo sự chuyển hóa của nó. Sau đó lấy mô hoặc tế bào ra định hình, cắt mảnh đặt lên phiến kính và có thể nhuộm. Bọc phiến kính có tiêu bản bằng nhũ tương ảnh trong tối và giữ trong tối như giữ phim ảnh. Sau một thời gian chất phóng xạ nằm trong tế bào sẽ phát ra các điện tử, các điện tử này sẽ tác động lên bromua bạc của nhũ tương ảnh. Đem rửa phiến kính như rửa phim ảnh thường, khi soi dưới kính hiển vi sẽ nhìn thấy cả hình tiêu bản bình thường và ảnh của bộ phận tế bào có chất phóng xạ, chỗ những vết đen tập trung trên nhũ tương ảnh.

2.4. Nuôi cấy tế bào

Những tế bào rời như tế bào bạch cầu lympho, tế bào từ bào thai bong ra trong dịch ối, các mô tách khỏi cơ thể, ví dụ mô lấy từ bào thai, mô lấy từ da... có thể nuôi cấy được trong môi trường nhân tạo. Môi trường nhân tạo này là môi trường dinh dưỡng lỏng có đầy đủ chất hòa tan thích hợp cho tế bào sống và sinh sôi, có nhiệt độ và độ pH thích hợp và cần nhất là phải vô khuẩn tuyệt đối. Tế bào nuôi như vậy sau khi rời khỏi cơ thể vẫn sống và sinh sôi và về cơ bản vẫn giữ được bản chất sinh học của cá thể nguồn gốc mà chúng được tách ra.

Các tế bào nuôi cấy này được sử dụng làm vật chủ sống cho virus, loại sinh vật này ký sinh bắt buộc trong tế bào sống. Trong công nghiệp chế tạo vaccin, tế bào nuôi cấy này cũng được sử dụng như vật thí nghiệm sống, ví dụ như trường hợp thử thuốc trên tế bào người nuôi cấy. Trong công tác nghiên cứu và chẩn đoán di truyền, nuôi cấy tế bào là phương pháp cơ bản nhất để xem xét bộ nhiễm sắc thể của cá thể. Trong chẩn đoán trước sinh các bệnh di truyền, phương pháp nuôi cấy tế bào bào thai trong dịch ối là phương pháp để xem xét không những bộ nhiễm sắc thể của đứa trẻ tương lai mà còn xét nghiệm được các sản phẩm chuyển hóa, các enzym liên quan đến tật, bệnh di truyền có trong tế bào của mẫu nuôi cấy và trong dịch nuôi cấy. Phương pháp nuôi cấy tế bào, nếu được phối hợp với kỹ thuật gen thì có thể chẩn đoán trước sinh tới mức độ tìm ra chính gen bệnh, ví dụ gen bệnh thiếu máu hồng cầu liềm.

2.5. Ly tâm phân tách

Ly tâm phân tách là phương pháp cho phép tách riêng các bào quan thành từng loại thuần khiết để nghiên cứu. Phương pháp gồm có hai bước:

2.5.1. Bước 1: Nghiền tế bào để phá vỡ màng tế bào, sao cho chỉ làm vỡ màng mà không hại tới các bào quan và các thành phần khác của tế bào chất. Muốn vậy phải:

- Nghiền và để lắng ở nhiệt độ thấp.
- Dùng môi trường lỏng đẳng trương để nghiền có chứa dung dịch đệm để tránh làm thay đổi pH chung và riêng từng phần. Ngoài ra còn phải phụ thêm các chất hóa học nhằm bảo vệ các chất của tế bào tránh mọi phản ứng. Người ta thường dùng cối nghiền hoặc máy nghiền bằng thủy tinh mài quay với tốc độ cao và làm việc với nhiệt độ gần 0 - C.

2.5.2. Bước 2: làm lắng bằng máy ly tâm. Trong máy ly tâm, các thành phần khác nhau sẽ bị kéo bởi một lực ly tâm khác nhau và tốc độ kéo của lực đó được tính theo công thức:

$$V = v \frac{(2\pi N)^2}{g} \times R$$

V: tốc độ kéo của lực ly tâm

v: tốc độ lắng khi không có lực ly tâm

N: số vòng/giây của máy ly tâm

R: bán kính máy ly tâm

g: gia tốc trọng trường

Tốc độ lắng của vật thể sẽ nhanh hơn tốc độ lắng tự nhiên của nó có thể đến hàng ngàn lần.

Ly tâm một lần thu được phần lắng thường chưa được thuần khiết ngay nên người ta lại hòa tan phần lắng ra và ly tâm lần nữa với tốc độ lớn hơn cho đến khi phần lắng là thuần khiết.

Trong tế bào các phần có tỷ trọng theo thứ tự lớn đến nhỏ là: glycogen, sắc tố hoặc các tinh thể, và nhẹ nhất là dịch tế bào và các chất béo.

2.6. Phương pháp siêu ly tâm phân tách

Siêu ly tâm phân tách có tốc độ quay cực nhanh và tốc độ quay được kiểm soát một cách chính xác. Đối tượng tách là các phân tử đã đồng nhất. Máy này là một trong những phương tiện nghiên cứu protein, ADN, ARN và cho phép xác định trọng lượng phân tử và hình dáng của chúng, tách giữ các

phân tử này.

2.7. Vi phẫu tích tế bào

Dưới kính hiển vi, người ta cũng có thể tiến hành phẫu tích gọi là vi phẫu tích tế bào với những dụng cụ rất nhỏ, tách được nhân ra khỏi tế bào hoặc cắt tế bào thành những mảnh nhỏ để nghiên cứu.

2.8. Các phương pháp hóa học tế bào

Phương pháp hóa học tế bào giúp ta xác định được vị trí tập trung của các chất khác nhau trong tế bào và trong nhiều trường hợp có thể định lượng được chúng nhờ những máy quang phổ đặc biệt. Phương pháp này còn dựa trên các phản ứng định tính hóa học, đối với từng loại chất, bằng cách dùng thuốc thử khác nhau, có thể thấy được màu sắc đặc trưng và vị trí của chất cần phát hiện.

Ngoài ra người ta còn dùng các phương pháp thông thường khác như phương pháp ủ lạnh, phương pháp nghiên cứu sự chuyển hóa nội bào...

Trong vấn đề nghiên cứu tế bào, cần có các kỹ thuật ở mức phân tử, kỹ thuật gen: tách chiết ADN, điện di ADN, lai ADN, kỹ thuật tái tổ hợp ADN, nhân ADN, giải trình tự ADN... Những kỹ thuật này sẽ được trình bày ở phần sinh học phân tử.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Nêu nội dung cơ bản của học thuyết tế bào.
2. Nêu nội dung cơ bản của phương pháp hiển vi quang học.
3. Trình bày nguyên lý cơ bản của phương pháp hiển vi điện tử, tự chụp hình phóng xạ, nuôi cấy tế bào.
4. Trình bày nội dung của phương pháp ly tâm phân tách, siêu ly tâm phân tách, vi phẫu tích tế bào và phương pháp hóa học tế bào.

Bài 2

MÀNG TẾ BÀO VÀ TẾ BÀO CHẤT

MỤC TIÊU

1. Trình bày được cấu trúc, thành phần hóa học, chức năng màng tế bào và sự hình thành màng tế bào.
2. Trình bày được cấu trúc, thành phần hóa học, chức năng của các bào quan và các thành phần thuộc tế bào chất.

1. CẤU TRÚC VÀ CHỨC NĂNG CỦA MÀNG TẾ BÀO

1.1. Màng tế bào

Phần này giới thiệu chủ yếu cấu trúc và chức năng của tế bào Eukaryota; một số vấn đề có liên quan, có liên hệ với Prokaryota.

Mọi tế bào đều được bao bọc bởi màng tế bào.

Tế bào sinh vật Eukaryota có hình dạng, kích thước và khối lượng khác nhau tùy thuộc tế bào của sinh vật đơn bào, đa bào, tùy thuộc vị trí chức năng của chúng ở các mô trong cơ thể.

Mỗi tế bào gồm 3 phần chính: màng tế bào, tế bào chất và nhân.

Màng tế bào và hệ thống màng nội bào (màng lưới nội chất, màng bộ Golgi, màng tiêu thể, màng ty thể, màng lục thể, màng nhân...) đều có bản chất là màng sinh chất.

Màng sinh chất đều có cấu tạo chung: là màng lipoprotein, thành phần hóa học gồm lipid, protein ngoài ra còn có carbohydrat. Lipid tạo thành lớp kép, đầu ưa nước quay ra phía ngoài lớp kép phân tử, đầu kỵ nước quay vào trong lớp kép phân tử. Protein phân bố đa dạng và linh hoạt trong lớp kép lipid. Các carbohydrat thường liên kết với lipid hoặc protein. Hàm lượng lipid, protein, carbohydrat cũng như cách sắp xếp của chúng trong màng tùy thuộc vào chức năng từng loại màng.

1.1.1. Cấu trúc màng tế bào

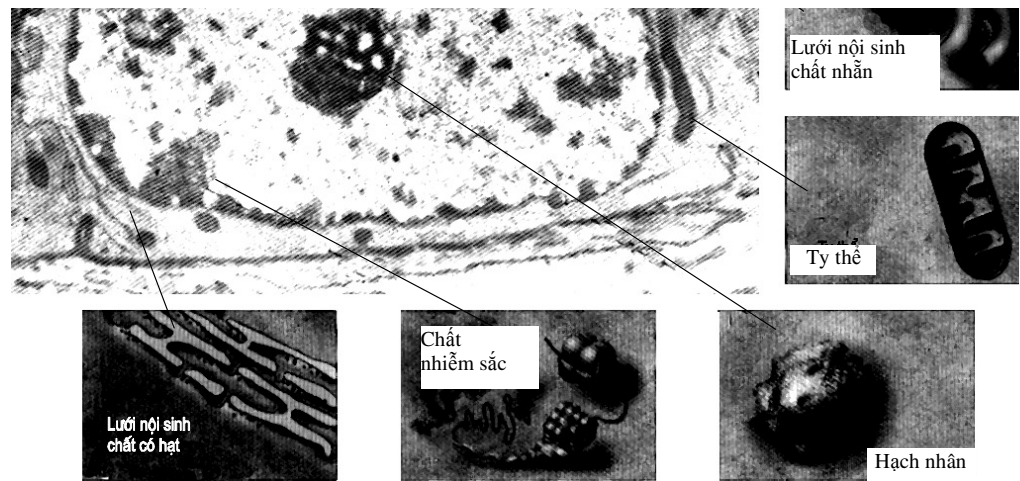
Hình hiển vi điện tử cho thấy màng tế bào là một màng mỏng, khoảng 100Å gồm hai lớp sẫm song song kẹp ở giữa là một lớp nhạt. Mỗi lớp dày khoảng từ 25 - 30Å. Lớp nhạt là lớp phân tử kép lipid còn hai lớp sẫm chủ yếu do phần ưa nước của các phân tử protein tạo nên.

Tiêu thể

Màng
sinh chất

Bộ golgi

Nhân



Hình 1.1. Hình hiển vi điện tử và sơ đồ minh họa cấu trúc tế bào Eukaryota

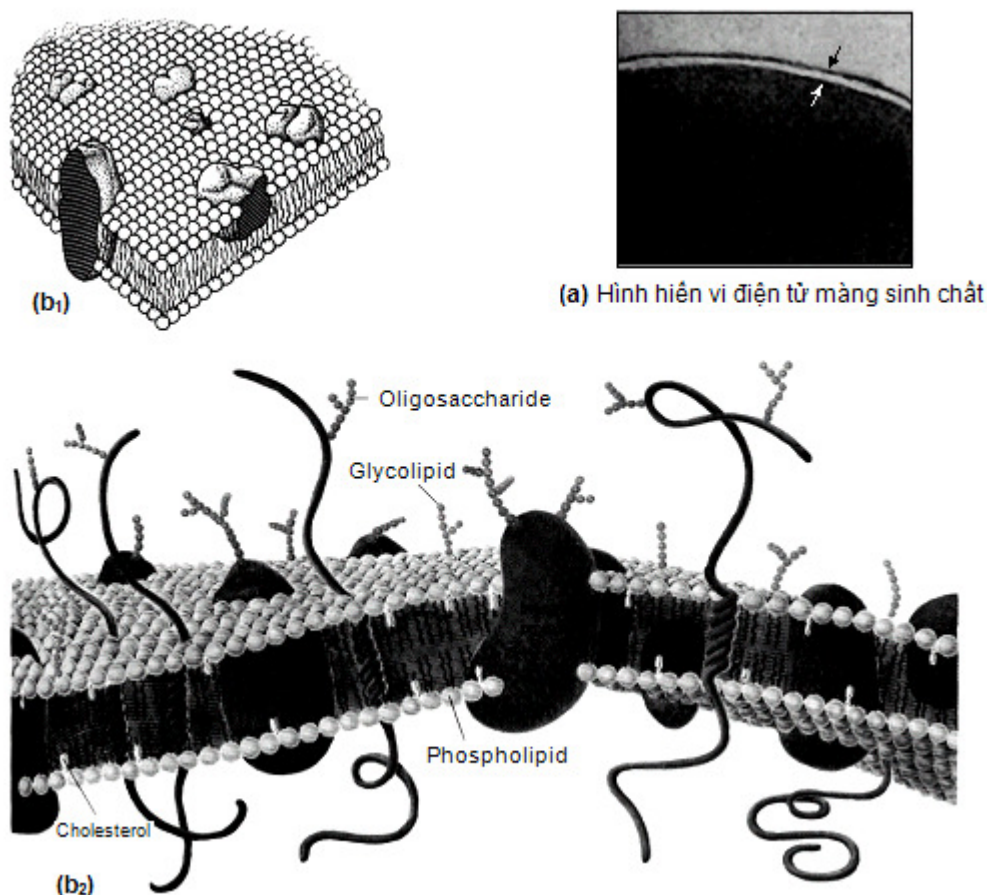
1.1.1.1. Cấu trúc lipid màng tế bào

Lipid màng tế bào là lớp phân tử kép lipid vì lớp này gồm hai lớp phân tử lipid áp sát nhau, làm nên cấu trúc cơ bản bao bọc quanh tế bào.

Lipid màng có thành phần cấu trúc và đặc tính cơ bản như sau:

Về thành phần hóa học, lipid màng được chia làm hai loại: phospholipid và cholesterol.

Tính chất chung của hai loại là mỗi loại phân tử đều có một đầu ưa nước và một đầu kỵ nước. Đầu ưa nước quay ra ngoài tế bào hoặc vào trong tế bào để tiếp xúc với nước của môi trường hoặc tế bào chất, còn đầu kỵ nước thì quay vào giữa, nơi tiếp giáp của hai lớp phân tử lipid. Tính chất đầu kỵ nước này đã làm cho màng luôn luôn có xu hướng kết dính các phân tử lipid với nhau để cho đầu kỵ nước ấy khỏi tiếp xúc với nước, và lớp phân tử kép lipid còn khép kín lại, tạo thành một cái túi kín để cho tất cả các đầu kỵ nước đều được giấu kín khỏi nước. Nhờ tính chất này mà lớp lipid có khả năng tự động khép kín, tái hợp nhanh khi bị mở ra, xé ra hay tiếp thu một bộ phận lipid mới vào màng.



Hình 1.2. Hình hiển vi điện tử màng sinh chất (a) và mô hình cấu trúc màng sinh chất (b₁, b₂)

- Các phospholipid

Các phospholipid nói chung rất ít tan trong nước. Thành phần lipid của đa số màng hầu như bao giờ cũng là một phospholipid liên kết với một hàm lượng nhỏ các lipid trung tính và glycolipid.

Có rất nhiều loại phospholipid, chúng chiếm khoảng 55% trong thành phần lipid của màng tế bào. Bốn loại chính theo thứ tự từ nhiều đến ít nhất là: phosphatidylcholin, sphingomyêlin, phosphatidylethanolamin, phosphatidylserin. Ngoài ra còn có phosphatidylinositol với tỷ lệ thành phần ít hơn.

Các loại phân tử này xếp xen kẽ với nhau, từng phân tử có thể quay xung quanh chính trục của mình và đổi chỗ cho các phân tử bên cạnh hoặc cùng một lớp phân tử theo chiều ngang. Sự thay đổi chỗ này là thường xuyên, chúng còn có thể đổi chỗ theo chiều ngang. Khi đổi chỗ sang lớp đối diện, các phospholipid phải cho phần đầu ưa nước vượt qua lớp tiếp giáp kỵ nước giữa hai lớp, cho nên cần có sự can thiệp của một hoặc một số protein màng.

Khi các phân tử phospholipid tiếp xúc với nước, thì đuôi dài kỵ nước của phospholipid không liên kết với nước, đồng thời các phân tử nước luồn lách để tìm phần ưa nước, hình thành liên kết hydro. Mỗi phân tử phospholipid định hướng để đầu phân cực ưa nước quay vào nước, đuôi hướng phân cực kỵ nước quay khỏi nước, vì vậy nó đã hình thành nên hai lớp có đuôi kỵ nước hướng vào nhau tạo lớp kép lipid. Hai lớp lipid màng thường chứa các lipid khác nhau.

Chức năng của phospholipid:

Thành phần chính tạo nên nền tảng cơ bản của màng sinh chất. Sự đổi chỗ của các phospholipid tạo tính lỏng linh động của tế bào

Tham gia vận chuyển vật chất qua màng, là thành phần chính phụ trách vận chuyển thụ động vật chất qua màng. Phần kỵ nước của lớp kép lipid đẩy lùi bất kỳ phân tử hòa tan nước nào đi qua. Ngoài phân tử phospholipid, màng tế bào còn có các protein xuyên qua lớp kép lipid tạo các kênh dẫn truyền qua màng. Protein màng được định vị trên màng bởi các phân tử phospholipid, tuy nhiên protein màng không cố định một chỗ, có thể chuyển vị trí.

Phospholipid liên kết với các nhánh carbohydrat trên bề mặt màng làm cho màng có thêm nhiều chức năng có tính đặc hiệu.

- Cholesterol

Màng sinh chất của Eukaryota bao giờ cũng có cholesterol là một lipid steroid trung tính. Cholesterol là một loại phân tử lipid nằm xen kẽ các phospholipid và rải rác trong hai lớp lipid của màng. Cholesterol chiếm từ 25 - 30% thành phần lipid màng tế bào. Màng tế bào là loại màng sinh chất có tỷ lệ cholesterol cao nhất (màng tế bào gan có tỷ lệ cholesterol còn cao hơn: 40% tổng số lipid toàn phần), tỷ lệ cholesterol cao làm giảm tính lỏng linh động của tế bào.

Thành phần còn lại của lipid màng là glycolipid (khoảng 18%) và acid béo kỵ nước (khoảng 2%).

1.1.1.2. Cấu trúc protein màng tế bào

Lipid màng tế bào đảm nhiệm phần cấu trúc cơ bản, còn các chức năng đặc hiệu của màng thì phần lớn do các phân tử protein màng đảm nhiệm. Cho đến nay người ta đã phát hiện trên 50 loại protein màng (cùng có trên một màng sinh chất duy nhất). Tỷ lệ P/L (protein trên lipid) là xấp xỉ một ở màng tế bào hồng cầu.

Căn cứ vào cách liên kết với lipid màng, người ta chia protein màng ra làm hai loại: protein xuyên màng và protein ngoại vi.

- Protein xuyên màng

Gọi protein xuyên màng vì phân tử protein có một phần nằm xuyên suốt màng lipid và hai phần đầu của phân tử thì thò ra hai phía bề mặt của màng.

Phần xuyên suốt màng, hay phần dẫu trong màng lipid là phần kỵ nước, vẫn là hình sợi nhưng có thể xuyên qua màng một lần, nhưng cũng có loại lộn vào lộn ra để xuyên qua màng nhiều lần, có khi tới 6 - 7 lần. Các phần thò ra hai phía bề mặt màng đều ưa nước. Nhiều loại phân tử protein màng có đầu thò phía bào tương có nhóm carboxyl COO^- mang điện âm khiến chúng đẩy nhau và cũng vì vậy mà các phân tử protein xuyên màng tuy có di động nhưng phân bố đồng đều trong toàn bộ màng tế bào (tính chất này có thay đổi khi độ pH thay đổi).

Protein xuyên màng cũng có khả năng di động kiểu tịnh tiến trong màng lipid.

Protein xuyên màng chiếm tỷ lệ 70% protein màng tế bào.

Ví dụ protein xuyên màng:

+ Glycophorin

Glycophorin là một loại protein xuyên màng có phần kỵ nước xuyên màng ngắn. Chuỗi polypeptid ưa nước thò ra ngoài màng có mang những nhánh oligosaccharid và cả những nhánh polysaccharid. Các oligosaccharid này tạo phần lớn các carbohydrat của bề mặt tế bào.

Chuỗi polypeptid có đuôi carboxyl ưa nước quay vào trong tế bào chất, có thể tham gia vào việc liên kết với các protein khác bên trong màng. Các glycoprotein có thể mang các tên phân tử khác nhau. Chức năng của chúng cũng đa dạng như chức năng của lớp áo tế bào (sẽ nói rõ hơn ở phần sau).

+ Protein band₃ xuyên màng

Protein band₃ xuyên màng được nghiên cứu đầu tiên ở màng hồng cầu. Đó là một phân tử protein dài, phần kỵ nước này xuyên trong màng rất dài, lộn vào lộn ra tới 6 lần. Phần thò ra trên bề mặt ngoài màng tế bào cũng liên kết với các oligosaccharid. Phần xuyên màng phụ trách vận chuyển một số anion qua màng. Phần thò vào tế bào chất gồm hai vùng: vùng gắn với ankyrin, một loại protein thành viên của hệ protein lát trong màng, và vùng gắn với các enzym phân ly glucose và gắn với hemoglobin. Với vai trò vận chuyển anion, band₃ như là một phân tử độc lập, khi gắn với ankyrin để nới hệ lưới protein vào lipid màng thì band₃ đứng sóng đôi gồm hai phân tử band₃ kết hợp với hai phân tử ankyrin.

Về protein xuyên màng ngày càng có thêm các ví dụ mà hay gặp là các protein enzym vận tải. Tên của chúng phụ thuộc vào vật chất mà chúng vận tải qua màng.

- Protein ngoại vi

Protein ngoại vi chiếm khoảng 30% thành phần protein, gặp ở mặt ngoài hoặc mặt trong tế bào. Chúng liên kết với đầu thò ra hai bên màng của các protein xuyên màng. Kiểu liên kết được gọi là hấp phụ, không phải là liên kết đồng hóa trị mà bằng lực tĩnh điện hay bằng các liên kết kỵ nước.

Lấy ví dụ ở hồng cầu: fibronectin là protein ngoại vi ở phía ngoài màng còn actin, spectrin, ankyrin, band_{4.1} thì ở phía trong màng. Tất cả 4 loại protein ngoại vi này làm thành một mạng lưới protein lát bên trong màng hồng cầu bảo đảm tính bền và hình lõm hai mặt cho màng hồng cầu. Spectrin là những phân tử hình sợi xoắn và là phần sợi của lưới. Lưới gồm các mắt lưới, mỗi mắt lưới là một hình 6 cạnh. Cạnh là spectrin. Đỉnh góc có hai loại xen kẽ nhau: loại thứ nhất gồm actin và band_{4.1}, loại thứ hai gồm hai phân tử ankyrin. Mỗi phân tử ankyrin liên kết với vùng gắn với ankyrin của phân tử protein xuyên màng band₃ (band₃ liên kết trực tiếp với ankyrin chỉ chiếm khoảng 20% tổng số band₃ và như vậy lưới protein ngoại vi nới vào màng bằng protein xuyên màng).

Nhiều protein màng ngoại vi khác cũng đã được phát hiện ở phía ngoài màng, chúng tham gia cùng các oligosaccharid có mặt trong lớp áo tế bào hoặc dưới lớp áo tế bào, đóng các loại vai trò khác nhau.

Như đã dẫn, fibronectin là một protein màng ngoại vi bám ở mặt ngoài màng tế bào. Protein này có ở hầu hết động vật từ san hô cho đến người, ở các tế bào sợi, tế bào cơ trơn, tế bào nội mô... Nhờ fibronectin mà tế bào bám dính dễ dàng với cơ chất của nó.

Điều đáng chú ý là tế bào ung thư có tiết ra protein này, nhưng không giữ được nó trên bề mặt của màng tế bào. Sự mất khả năng bám dính tạo điều kiện cho tế bào ung thư di căn.

Chức năng protein màng:

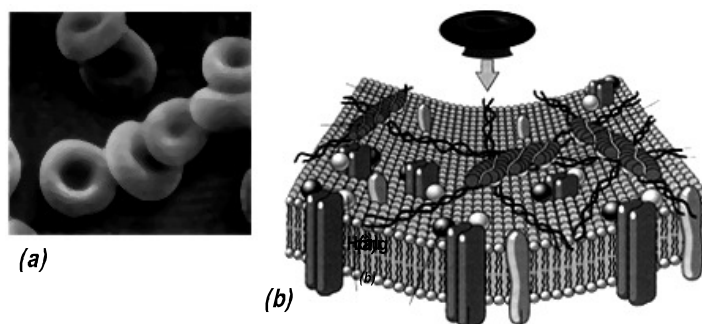
Có nhiều loại protein có mặt trong một màng sinh chất. Ngoài chức năng cụ thể của từng loại protein, chức năng chung của các protein màng tế bào:

Dẫn truyền nước và các chất qua màng theo cơ chế chủ động, thụ động. Kênh protein xuyên một lần thường dẫn truyền các phân tử lớn. Kênh protein xuyên nhiều lần tạo kênh dẫn truyền các phân tử nhỏ qua màng, dẫn truyền chọn lọc một số phân tử ra vào tế bào.

Có chức năng thụ quan (receptor) tiếp nhận dẫn truyền thông tin. Tiếp nhận thông tin, nhận dạng tế bào, liên kết với các tế bào khác, nhiều phản ứng hóa học quan trọng của tế bào được thực hiện ở màng

tế bào.

Protein ngoại vi xác định hình dạng tế bào, liên kết màng tế bào với khung xương tế bào tạo khung nâng đỡ bên trong màng tế bào.



Hình 1.3. Hồng cầu (a) và mô hình cấu tạo màng hồng cầu (b)

1.1.1.3. Carbohydrat màng tế bào

Carbohydrat có mặt ở màng tế bào dưới dạng các oligosaccharid, gắn vào hầu hết các đầu ưa nước của các protein màng thò ra bên ngoài màng tế bào. Đầu ưa nước của khoảng một phần mười các phân tử lipid màng (lớp phân tử ngoài) cũng liên kết với các oligosaccharid. Sự liên kết với các oligosaccharid được gọi là sự glycosyl hóa, biến protein thành glycoprotein, lipid thành glycolipid.

Các chuỗi carbohydrat thường rất quan trọng đối với sự gấp protein để tạo thành cấu trúc bậc ba và do đó chúng làm cho protein được bền và có vị trí chính xác trong tế bào. Nói chung, carbohydrat không có vai trò trong chức năng xúc tác của protein. Khi liên kết với mặt ngoài màng tế bào tại phần acid sialic của protein - phần acid này tích điện làm cho bề mặt glycoprotein đều mang điện âm. Các phân tử glycoprotein đều mang điện âm nên đẩy nhau làm cho chúng không bị hòa nhập với nhau.

Glycolipid cũng vậy, có phần carbohydrat quay ra phía ngoài tế bào, cũng liên kết với một acid gọi là gangliosid cũng mang điện âm và góp phần cùng với các glycoprotein làm cho mặt ngoài của hầu hết tế bào động vật có điện tích âm.

Chức năng carbohydrat màng:

Tạo lớp áo tế bào: glycosyl hóa protein tạo glycoprotein, glycosyl hóa lipid

tạo glycolipid. Lớp áo tế bào (cell coat) được tạo nên do sự glycosyl hóa bởi các oligosaccharid với đầu ưa nước của protein, đầu ưa nước của lipid tạo nên các phân tử glycoprotein, glycolipid. Lớp áo tế bào của màng sinh chất có chức năng bảo vệ, tạo điện âm ở bề mặt màng tế bào, tham gia trao đổi chất. Đặc biệt vấn đề miễn dịch đặc trưng cho từng mô, liên quan đến kháng nguyên quy định nhóm máu; kháng nguyên bạch cầu người HLA (human leukocyte antigen)

Tính chất chung là như vậy, nhưng từng vùng, từng điểm một, thành phần và cấu trúc rất khác nhau tạo nên các trung tâm, các vị trí khác nhau phụ trách các chức năng khác nhau như nhận diện, đề kháng, truyền tin, vận tải...

1.1.2. Sự hình thành màng tế bào

Màng chỉ được sinh ra từ màng. Màng tế bào được nhân lên mạnh nhất là trước lúc phân bào, khi tế bào chất nhân đôi thì màng tế bào cũng được nhân đôi đủ cho hai tế bào con.

Bào quan trực tiếp tổng hợp nên màng mới là lưới nội sinh chất có hạt. Màng lipid do màng lưới nội sinh chất có hạt tổng hợp. Protein màng do các ribosom tự do trong tế bào chất và các ribosom bám trên

lưới nội sinh chất có hạt tổng hợp.

Nguồn carbohydrat lấy từ tế bào chất và một phần không nhỏ do các túi Golgi cung cấp thông qua các túi tiết và các túi thải chất cặn bã.

Thường xuyên màng tế bào bị thu nhỏ lại vì phải lõm vào để tạo nên các túi thực bào và ẩm bào. Để bù lại, thường xuyên tế bào có các túi tiết và các túi thải cặn bã, khi đã đưa hết nội dung ra ngoài rồi thì phần vỏ túi ở lại và hòa nhập vào màng tế bào. Sự hòa nhập này khá dễ dàng vì nói chung cấu tạo màng của các túi và của màng tế bào tương đối giống nhau.

1.2. Chức năng màng tế bào

- Màng tế bào là một tổ hợp protein - lipid - carbohydrat có tính linh hoạt cao, tương tác rộng với môi trường, có những chức năng cụ thể sau:

- Bao bọc tế bào, ngăn cách tế bào với môi trường tạo cho tế bào thành một hệ thống riêng biệt.

- Thực hiện trao đổi nước và trao đổi vật chất giữa tế bào với môi trường theo cơ chế thụ động, chủ động, có chọn lọc.

- Các receptor trên bề mặt tế bào nhận thông tin: vật lý, hóa học... chuyển cho tế bào. Điều này thường do các protein xuyên màng đảm nhận. Trên màng có các vị trí cho các phản ứng enzym đặc hiệu, có các con đường chuyển hóa vật chất, khi receptor tiếp xúc với phân tử nào đó trên bề mặt tế bào thì gây ra biến đổi bên trong tế bào. Đầu ưa nước của protein sau khi được glycosyl hóa liên kết với các chất đặc hiệu, sự liên kết này làm biến đổi hình dạng của protein đầu bên trong dẫn đến sự biến đổi của hoạt động tế bào. Receptor bề mặt tế bào rất quan trọng đối với đời sống sinh vật và con người. Nếu không có các receptor này, con người sẽ không có các phản ứng thích hợp để sinh tồn, phát triển (nếu thiếu receptor đặc hiệu cho các hormon) dẫn đến rối loạn quá trình trao đổi chất. Nếu không có các kháng thể ở bề mặt thì không bảo vệ được cơ thể.

- Sự trao đổi thông tin qua màng: màng tế bào phát đi và thu nhận thông tin để điều chỉnh các hoạt động sống giữa các tế bào. Thông tin ở dạng những tín hiệu hóa học, vật lý, quá trình này liên quan đến receptor ở bề mặt màng tế bào.

- Xử lý thông tin: nhận diện tế bào quen lạ, kẻ thù để có phản ứng đúng. Kích thích hoặc ức chế tiếp xúc giữa các tế bào, giữa tế bào với cơ chất.

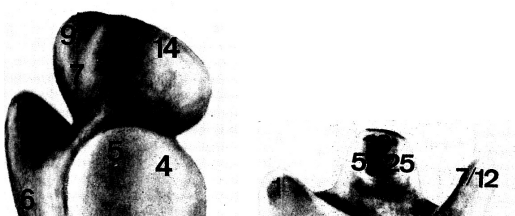
- Cố định các chất độc, dược liệu, virus, tạo ra sự đề kháng của tế bào bằng các cấu trúc trên màng. Màng tế bào còn là nơi dính bám của các cấu trúc bên trong tế bào.

2. TẾ BÀO CHẤT

Tế bào chất là tất cả các phần thuộc tế bào, được giới hạn ở phía trong bởi màng nhân, ở phía bên ngoài bởi màng tế bào. Tế bào chất gồm các thành phần cấu tạo nên tế bào chất: bào quan, thể vùi, dịch tế bào chất và các thành phần khác.

Sau đây là các bào quan của tế bào:

2.1. Ribosom



Ribosom không bị giới hạn bởi màng sinh chất nội bào, là thể kết hợp của rARN và protein có rải rác khắp tế bào chất, tự do hoặc bám vào lưới nội sinh chất có hạt và vào mặt ngoài của màng nhân ngoài.

2.1.1. Cấu trúc của ribosom

Ribosom gồm có hai phân đơn vị liên kết với nhau. Mỗi phân đơn vị có độ lắng khác nhau. Độ lắng là tốc độ lắng khi quay ly tâm trong những điều kiện tiêu chuẩn. Đơn vị lắng là đơn vị S (chữ viết tắt của tên tác giả Svedberg).

Ở Prokaryota, toàn bộ ribosom có độ lắng là 70S (phân đơn vị nhỏ có độ lắng là 30S, phân đơn vị lớn có độ lắng 50S).

Ở Eukaryota, con số đó lần lượt là: chung 80S, nhỏ 40S, lớn 60S.

Phân đơn vị nhỏ hình thuôn dài và cong nằm úp như cái vung không kín lên phân đơn vị lớn. Phân đơn vị lớn có 3 cái mấu thò lên ôm lấy phân đơn vị nhỏ.

2.1.2. Thành phần hóa học của ribosom

Mỗi phân đơn vị đều làm bằng protein và rARN. Các rARN cũng được phân biệt bằng đơn vị lắng S. Protein có nhiều và đa dạng được đặt tên là L và S kèm theo chỉ số.

- Ở Prokaryota:

+ Phân đơn vị nhỏ có một rARN 16S (1540 base) và 21 phân tử protein có tên từ S1 đến S21.

+ Phân đơn vị lớn có hai rARN: 5S (120 base), 23S (2900 base) và 34 phân tử protein có tên từ L1 đến L34.

- Ở Eukaryota:

+ Phân đơn vị nhỏ có một rARN 18S (1900 base) và 33 phân tử protein có tên từ S1 đến S33.

+ Phân đơn vị lớn có hai rARN: 5S (120 base) và 28S liên kết với 5,8S (4700 base + 160 base) và 49 phân tử protein có tên từ L1 đến L49.

Vài bào quan như ty thể và lục lạp có ribosom riêng, kích thước nhỏ hơn.

2.1.3. Chức năng của ribosom

Nói một cách vắn tắt thì ribosom là nơi tổ chức việc tổng hợp protein của tế bào. Tuy đã được khám phá ra nhiều điều nhưng sự phức tạp của thành phần cấu trúc và hoạt động chức năng của ribosom vẫn còn nhiều bí ẩn.

rARN là acid nucleic nhưng không phải chỉ hoạt động đơn thuần có liên quan đến các mã di truyền mà còn liên kết phối hợp với các protein để tiếp đón mARN một cách chính xác, tổ chức tổng hợp (chuyển và nối các acid amin theo mệnh lệnh thông tin) và giao nhận (khi chuỗi peptid đã hoàn thành). Sự chọn cho được phức hợp tARN - acid amin chính xác để nối dài chuỗi peptid là công việc chiếm nhiều thời gian nhất của sự tổng hợp protein. Người ta phát hiện thấy ở Eukaryota, hầu như tất cả các protein trên bề mặt ribosom cũng như các vòng sợi rARN lộ ra trên bề mặt của ribosom đều gắn với các nhân tố khác như enzym, các nucleotid nhất định trên mARN, trên tARN để tổ chức và quyết định sự khởi đầu, kéo dài và kết thúc sự tổng hợp protein... Bản thân mARN đã có tín hiệu riêng khởi đầu của nó, nhưng sự khởi đầu chỉ thực hiện khi có sự phối hợp của cả một phức hợp protein và rARN trên ribosom. Không có phức hợp protein nói trên thì cả hệ thống mARN, Met - tARN Met, GTP tại codon AUG khởi đầu của mARN và cả phân đơn vị nhỏ của ribosom không thể hình thành. Phức hợp protein

ribosom và rARN và cả mARN luôn thay đổi hình dạng của cấu trúc nhờ năng lượng thủy phân GTP để chuyển dịch mARN đi vào và đi qua ribosom (xem phần tổng hợp protein ở phần sau).

Vai trò của rARN, với tư cách nhận diện và liên kết theo cơ chế các cặp base, người ta thấy có một chuỗi ngắn nucleotid trên rARN 5S, trước khi bước vào tổng hợp protein, chuỗi ngắn ấy gắn với một chuỗi tương ứng trên mARN, chuỗi này chứa một mã không đặc hiệu nằm trước mã đầu tiên của mỗi mARN (có tác giả cho rằng chuỗi ngắn rARN vừa trình bày thuộc về chuỗi rARN 16S ở vi khuẩn).

Một chuỗi nucleotid khác thuộc rARN 28S thì gắn với chuỗi tương ứng (cũng không đặc hiệu) trên tARN khi tARN này mang một acid amin tới ribosom. Người ta cho rằng TΨCG không đặc hiệu của tARN phụ trách việc này. Chúng ta để ý bộ bốn này có T và cả Ψ : ARN về nguyên tắc không có T và Ψ thì đây là loại nucleotid lạ. Khi tARN tổng hợp xong hay bị biến đổi. Sự biến đổi hay gặp nhất là ở bộ bốn UUCG giữa phân tử vòng tròn ở nhánh phải của (chữ thập). Chữ U đầu tiên bị methyl hóa thành T. Chữ U thứ hai sắp xếp lại thành pseudouridin (Ψ), trong đó ribose liên kết với một carbon thay vì liên kết với một nitơ. Sự biến đổi này tạo nên TΨ CG.

2.1.4. Dạng tồn tại của ribosom

Ribosom có thể tồn tại dưới dạng phân đơn vị. Trong tế bào chất đa số các loài sinh vật, các phân đơn vị lớn và nhỏ chỉ hợp lại với nhau khi tổng hợp protein. Các phân đơn vị được thành lập tại hạch nhân trong nhân tế bào. Ribosom của ty thể và lục thể có những đặc tính tương tự như ribosom của vi khuẩn.

Ribosom có hai dạng chính: ribosom tự do trong tế bào chất và ribosom bám vào lưới nội sinh chất và màng nhân.

- Loại ribosom tự do: là nơi sản xuất chủ yếu các protein thuộc bộ xương của tế bào, các protein thêm vào cho ty thể, và cho peroxysom như catalase. Các protein do ribosom tự do tổng hợp đều có một chuỗi ngắn acid amin làm tín hiệu dẫn đường đưa đến nơi giao nhận.

- Loại ribosom bám vào lưới nội sinh chất và màng nhân: có điểm khác căn bản với ribosom tự do ở chỗ chúng chỉ chuyên trách làm nơi tổng hợp các protein tiết nói chung, cần bảo quản ngay sau khi tổng hợp và được giao nhận trong các túi vận tải. Mỗi ribosom được gắn bằng phân đơn vị lớn của mình vào một điểm trên màng lưới nội sinh chất hoặc màng nhân, điểm này làm bằng protein gọi là ribophorin, kiểu như một receptor trên màng. Khi không có tổng hợp protein thì ribosom vẫn tự do. Chuỗi acid amin đầu tiên chính là tín hiệu dẫn đường đưa ribosom vào vị trí tiếp nhận.

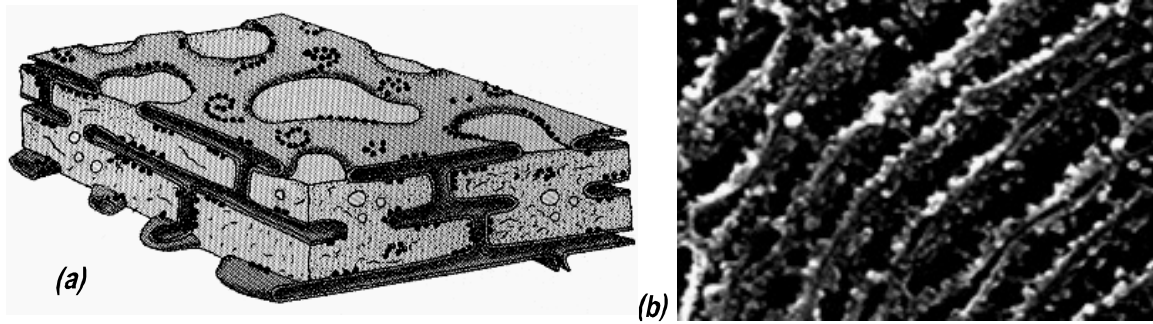
Ribosom tự do và ribosom bám vào lưới giống nhau về thành phần cấu trúc protein và rARN. Gọi là tự do nhưng thực sự thấy chúng thường bám vào các bộ xương của tế bào.

- Polysom hay polyribosom là hình ảnh đồng thời nhiều ribosom làm việc trên cùng một sợi mARN. Mỗi ribosom cho ra chuỗi peptid riêng của mình, các chuỗi này đều giống nhau vì được tổng hợp từ một mARN.

2.2. Lưới nội sinh chất có hạt (Rough endoplasmic reticulum: RER)

2.2.1. Cấu trúc và thành phần hóa học

Lưới nội sinh chất có hạt là một hệ thống lan toả toàn bộ tế bào chất, gồm các túi dẹt và ống nhỏ giới hạn bởi một lớp màng sinh chất nội bào, tạo thành một không gian riêng, cách biệt với tế bào chất. Khoảng không gian này nối với khoảng quanh nhân, và nối với màng tế bào để thông với khoảng gian bào.



Mô hình lưới nội sinh chất có hạt

Hình hiển vi điện tử lưới nội sinh chất có hạt

Hình 1.5. Hình hiển vi điện tử và mô hình cấu tạo lưới nội sinh chất có hạt

Màng của lưới nội sinh chất có hạt cũng là màng sinh chất nhưng đặc trưng bởi:

- Tỷ lệ protein trên lipid (P/L) cao hơn ở màng tế bào, lớn hơn một và có thể gần bằng hoặc bằng hai tùy loại tế bào.
- Màng này lỏng linh động hơn màng tế bào vì tỷ lệ cholesterol thấp, chỉ chiếm 6% thành phần lipid (ở tế bào gan chuột), (tỷ lệ này ở màng tế bào là 30%), sự đổi chỗ theo chiều ngang của các phospholipid rất dễ dàng.
- Một trong các phospholipid của màng: phosphotidyl cholin chiếm ưu thế (55%) (ở màng tế bào tỷ lệ này là 18%).
- Màng có nhiều protein enzym, những enzym chính là: glucose - 6 - phosphatase, nucleotid - phosphatase.
- Trên màng có những chuỗi vận chuyển electron tham gia thủy phân nhiều cơ chất.
- Đặc biệt là trên bề mặt ngoài của màng có các ribosom bám vào mặt ngoài của lưới nội sinh chất một cách tương đối cố định. Ribosom này có thể rời ra, ở một số tế bào có tổng hợp protein tiết mạnh thì hệ lưới nội sinh chất có hạt phát triển và số lượng ribosom bám cũng lớn. Phân đơn vị lớn của ribosom bám vào một phức hợp protein trên màng lưới nội sinh chất có hạt được gọi chung là ribophorin. Phức hợp này còn có liên quan đến việc tiếp nhận protein tiết đưa vào lòng lưới, lực bám là lực liên kết ion cộng với lực của chính chuỗi polypeptid mới sinh. Trong trường hợp không có permease thì sợi protein tự lượn qua màng lipid của lưới nhờ tín hiệu dẫn đường (permease là một protein xuyên màng có chức năng vận chuyển qua màng).

Người ta cũng thấy đối với một số protein như globulin chẳng hạn, ribosom chỉ tìm đến phức hợp tiếp nhận khi sự tổng hợp protein tiết đã bắt đầu. Chuỗi acid amin mới sinh của sợi peptid tự nó làm tín hiệu dẫn đường đưa ribosom đang tự do đến với lưới, gặp phức hợp tiếp nhận của lưới. Sợi peptid mới sinh lượn qua phân đơn vị lớn của ribosom rồi lượn tiếp qua màng đi vào lòng lưới. Tín hiệu dẫn đường có loại bị thủy phân giáng cấp hoặc bị cắt ra khi peptid vào lòng lưới, có loại thì tồn tại để tiếp tục làm tín hiệu dẫn đường khi protein tiết ra khỏi lưới, bọc trong túi vận tải để đi về địa chỉ cuối cùng hoặc địa chỉ tiếp theo. Protein tiết là tên gọi chung chung, chúng có thể là chất tiết thật, cũng có thể là protein màng các loại, protein thủy phân acid của tiêu thể và một số glycoprotein khác không phải là protein thủy phân.

Protein vào lưới nội sinh chất có hạt đều là các oligome chứa khoảng ba đơn phân. Oligome gồm các chuỗi polypeptid nối với nhau, các chuỗi này ban đầu thì độc lập. Sau đó các chuỗi oligome chuyển sang dạng tuyến tính, uốn và gấp khúc lại, chỉ những phân tử nào gấp khúc nghiêm chỉnh mới được xuất

ra khỏi lưới để đi về nơi tiếp nhận (phần lớn về bộ Golgi). Những phân tử không gấp khúc tốt thì bị lưu lại, hoặc sẽ tích tụ trong lưới hoặc sẽ bị giáng cấp. Các protein riêng của lưới được giữ lại một cách có chọn lọc trong lưới.

2.2.2. Chức năng

Nói chung lòng lưới nội sinh chất có hạt bảo quản protein và gắn những chuỗi ngắn các đường glucose, mannose... và người ta gọi là glycosyl hóa. Sự glycosyl hóa đầu tiên này gọi là glycosyl hóa bước một, nó làm cho protein hoạt động hơn mà sự hoạt động thấy rõ nhất là tham gia cùng với chuỗi acid amin đầu tiên, phía đầu N, để làm tín hiệu dẫn đường đi tìm địa chỉ giao nhận. Sau đó protein được dồn về phía bờ mép của túi lưới, vào các ống nhỏ tận cùng bởi các túi nhỏ. Các túi này đứt ra thành các túi vận tải (vẫn mang tín hiệu dẫn đường). Do chúng có màu đậm trên hình hiển vi điện tử nên được gọi là thể đậm. Các loại thể đậm khác nhau theo tín hiệu của mình đi đến nơi giao nhận chính xác, trong đó có màng tế bào. Protein có thể được đổ ra ngoài tế bào dưới dạng chất tiết. Ngoài việc tiếp nhận, chế biến, bao gói và gửi đi các protein, lưới nội sinh chất có hạt có chức năng tổng hợp phospholipid và cholesterol ngay bên trong màng lưới. Sản phẩm này trước hết dùng để tái tạo, thay phần già cũ hay thành lập mới khi phân bào để thành lập màng tế bào, cholesterol còn để cung cấp cho lưới nội sinh chất nhằm làm nguyên liệu để tổng hợp nên các chất khác. Protein cho các màng mới là do các ribosom bám trên màng lưới và các ribosom tự do trong bào tương cùng đảm nhiệm. Lưới nội chất có hạt còn có chức năng glycosyl hóa (điều chú ý là cholesterol ngoài sản phẩm tự tổng hợp của màng chúng còn được đưa vào tế bào qua con đường thức ăn. Khi đi qua màng hoặc di chuyển trong dịch cơ thể, cholesterol cần một phức hợp tiếp nhận và vận tải viên riêng).

Hệ thống lưới liên kết với khoảng gian bào chắc hẳn có ý nghĩa giao lưu, còn sự liên hệ với khoảng quanh nhân thì mối quan hệ không chỉ là sự giao lưu đơn thuần mà còn là sự cung cấp, bổ sung cho nhau các sản phẩm tổng hợp.

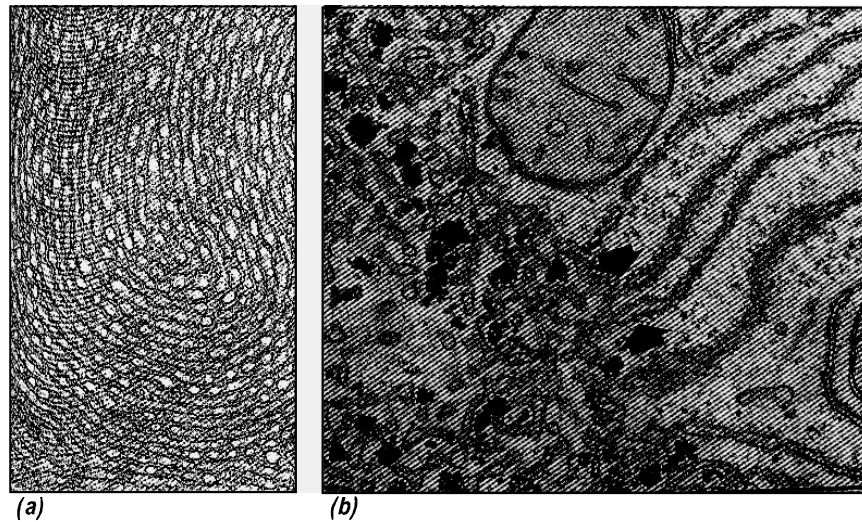
2.3. Lưới nội sinh chất nhẵn (Smooth endoplasmic reticulum: SER)

2.3.1. Cấu trúc và thành phần hóa học

Cũng gọi là lưới nhưng lưới nội sinh chất nhẵn không phải là những chồng túi dẹt xếp song song như kiểu lưới có hạt mà là một hệ thống ống lớn nhỏ, chia nhánh, thông với nhau và thông với lưới nội sinh chất có hạt. Trong một tế bào có thể có nhiều hệ thống lưới nội sinh chất nhẵn nằm xen lẫn với lưới nội sinh chất có hạt (trên hình hiển vi điện tử hệ lưới nội sinh chất nhẵn thấy như là từng đám ống nhỏ cắt cụt rời rạc).

Màng của lưới vẫn là màng sinh chất nội bào. Tỷ lệ P/L giống như của lưới nội sinh chất có hạt nhưng thành phần lipid có khác. Tỷ lệ cholesterol cao hơn chiếm 10% các thành phần lipid (ở RER là 6%). Phosphatidylcholin cũng cao như lưới nội sinh chất có hạt, chiếm 55% các thành phần lipid. Màng của lưới và cả trong lòng lưới chứa nhiều hệ thống enzym chuyên nối dài hoặc bão hòa hóa các acid béo. Hệ lưới nhẵn rất phát triển ở tế bào tuyến bã, tế bào xốp... là ở nơi nào mà sự tổng hợp thành phần lipid mạnh mẽ. Điều này có thể thấy được qua các tỷ lệ sau đây:

- Ở tế bào chuyên tiết protein như tuyến tụy thì hầu như chỉ có hệ thống lưới nội sinh chất có hạt.
- Ở tế bào cơ thì hầu như chỉ có hệ thống lưới nội sinh chất nhẵn (xem thêm lưới nội sinh chất nhẵn ở phần dưới).
- Ở tế bào gan thì tỷ lệ lưới nội sinh chất có hạt/lưới nội sinh chất nhẵn xấp xỉ bằng 1.



Hình 1.6. Hình lưới nội sinh chất nhẵn dưới kính hiển vi điện tử (a, b)

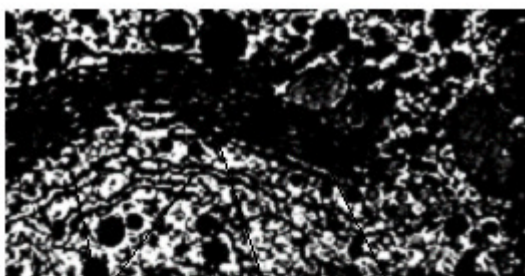
2.3.2. Chức năng của hệ lưới nội sinh chất nhẵn

- Chức năng tổng hợp: chuyên tổng hợp và chuyển hóa acid béo và phospholipid, tổng hợp lipid cho các lipoprotein nhờ các enzym trong màng lưới nội sinh chất nhẵn.
- Ở tinh hoàn, lưới nội sinh chất nhẵn tổng hợp các hormon steroid (hormon sinh dục và vỏ thượng thận) từ cholesterol.
- Về chức năng giải độc: các chất độc, dược liệu hoặc hóa chất có hại, thuốc trừ sâu hay chất gây ung thư đi vào lưới nội sinh chất nhẵn, tại đó các enzym xúc tác các phản ứng chuyển các chất từ không tan trong nước thành tan trong nước để có thể đào thải qua nước tiểu. Khi chất độc có nhiều, lưới nội sinh chất nhẵn tăng số lượng, tiêu độc xong thì phần thừa sẽ giải thể theo con đường tiêu hóa trong tiêu thể.
- Chức năng được gọi là nâng cấp các acid béo có thể thấy qua việc lưới nội sinh chất nhẵn dùng enzym của mình để nối lại các hạt monoglycerid, các mixen acid béo trước đó đã giáng cấp cho vụn ra để đi qua màng tế bào làm cho chúng trở lại nguyên hình các đại phân tử. Các sản phẩm của lưới nội sinh chất nhẵn cũng được phân phối theo yêu cầu dưới dạng chất tiết.
- Ngoài ra lưới nội sinh chất nhẵn ở tế bào cơ có một chức năng đặc biệt liên quan tới sự co duỗi cơ. Màng của cơ có protein enzym tên là Ca^{++} ATPase, còn gọi là cái bơm Ca^{++} . Khi cái bơm này bơm Ca^{++} vào lưới nội sinh chất nhẵn thì cơ duỗi và ngược lại khi bơm Ca^{++} trở lại cho tế bào chất thì cơ co.

2.4. Bộ Golgi

2.4.1. Cấu trúc bộ Golgi

Bộ Golgi thuộc hệ thống lưới nội bào có cấu trúc và chức năng khá phức tạp.



Bộ Golgi có dạng một chồng túi mỏng hình chỏm cầu xếp song song với nhau thành hệ thống túi dẹt (còn gọi là dictiosom) nằm gần nhân tế vào. Trên hình hiển vi điện tử mỗi túi dẹt có hình một lưới liềm, bờ mép túi ngoài thì lõm, bờ mép túi trong thì lồi. Túi và màng túi đều mỏng hơn của hệ lưới nội sinh chất, chiều dày của mỗi túi là khoảng 150Å, đường kính của miệng túi (giữa 2 mép túi) là 0,5 đến 1micromet.

Các túi dẹt càng về phía trans càng có các túi phình ở các bờ mép. Các túi dẹt từ phía cis có liên hệ với nhau. Phía cis là phía Golgi nhận sản phẩm đầu tiên từ lưới nội chất có hạt (hay còn gọi là đầu vào); phía trans là phía đối diện phía cis, nơi có túi dẹt Golgi cuối cùng (hay còn gọi đầu ra). Có tác giả cho là đường liên hệ là các kênh nhỏ, các tác giả khác thì cho rằng các túi cầu tạo ra từ các túi dẹt ngoài, hòa vào túi dẹt trong kế bên. Một loại túi cầu khác cũng tách ra từ các lớp túi dẹt chứa các sản phẩm tiết khác nhau, vận chuyển và giao nhận sản phẩm đến đúng nơi thu nhận. Những túi này được gọi là túi cầu Golgi. Bộ Golgi của một tế bào có thể gồm một hệ thống dictiosom hoặc nhiều hệ thống dictiosom. Các dictiosom gần nhau liên hệ với nhau bằng các kênh nhỏ nối liền với màng túi phía cis.

2.4.2. Sự phân cực và thành phần hóa học của bộ Golgi

Màng của các túi dẹt của bộ Golgi có cấu tạo hóa học không giống nhau.

Phía cis của chồng túi dẹt (dictiosom) có màng túi mỏng, cấu tạo hóa học giống cấu tạo hóa học của màng lưới nội sinh chất có hạt, tỷ lệ P/L xấp xỉ bằng 2 (độ dày của màng: 50 - 60Å).

Đi từ phía cis đến trans của Golgi, tỷ lệ P/L của màng túi dẹt càng giảm dần. Đến túi dẹt trong cùng của dictiosom phía trans thì màng túi dẹt có tỷ lệ P/L gần giống tỷ lệ P/L của màng tế bào, và độ dày của màng cũng dày hơn độ dày của màng túi dẹt phía cis (khoảng 100Å). Tỷ lệ cholesterol ở đây cũng cao. Các túi dẹt ở bên trong chồng dictiosom có tỷ lệ P/L giảm dần. ở miền trung gian có trị số giữa 2 và 1. Các túi dẹt còn có các nội dung về enzym khác nhau, các phức hợp protein có vai trò tiếp nhận (receptor) khác nhau tại mặt trong màng túi.

Trên hình hiển vi điện tử chúng ta thấy hầu hết các túi dẹt đều có chỗ phình ra ở mép túi chứ không chỉ ở túi dẹt cuối cùng phía trans.

Như trên đã nói, các thể đậm mang protein từ lưới nội sinh chất có hạt đến và đổ vào phía cis của dictiosom, protein được chuyển dần về phía trans. Khi các chất này vào bộ Golgi chúng được bộ Golgi liên kết thêm các chất, việc làm này được gọi là thuần thực hóa nhằm tăng tính đặc hiệu cho từng loại protein trong đó có vấn đề tín hiệu dẫn đường và nhận diện được địa chỉ giao nhận là quan trọng nhất. Ngoài ra còn có sự liên kết thêm là liên kết đồng hóa trị gồm sự glycosyl hóa, sulfat hóa, sự cộng thêm acid béo. Sau khi đã được thuần thực hóa, các chất liên kết tạm thời với các phức hợp protein tiếp nhận trên màng trong của túi dẹt để tạo nên các túi cầu chứa các chất "tiết" khác nhau. Các túi cầu Golgi to nhỏ khác nhau, có nội dung bên trong khác nhau và rõ ràng là màng túi cũng khác nhau kèm theo các protein tiếp nhận đặc hiệu của chất tiết. Các túi cầu Golgi được chuyển từ miền cis đến trans, sản phẩm ở miền trans là các túi tạo nên tiêu thể, các túi tạo màng tế bào, các túi tiết cũng góp phần tạo màng tế bào.

Tất cả các tính chất trên đây: sai khác về hình thái, sai khác về thành phần hóa học, hướng di chuyển vật chất qua dictiosom, và chức năng khác nhau của các túi dẹt từ phía cis đến phía trans gọi là sự phân cực qua dictiosom, sự phân cực của bộ Golgi.

2.4.3. Sự hình thành bộ Golgi

Bộ Golgi hình thành từ nhiều nguồn. Trước hết phải kể đến lưới nội sinh chất có hạt. Lưới nội sinh chất có hạt thường xuyên gửi đến bộ Golgi các túi vận tải gọi là thể đậm. Các thể đậm hoặc là hòa nhập ngay vào túi dẹt phía cis của bộ Golgi, hoặc là nếu có nhiều thì hòa nhập với nhau tạo thành một túi dẹt mới chuyển dọc theo ống vi thể tới miền cis của bộ Golgi ghép vào phía cis của bộ Golgi. Tự các túi dẹt của bộ Golgi cũng có thể lớn lên và tự chia đôi. Màng của bộ Golgi thường xuyên bị thiếu hụt đi do nó tạo nên các túi Golgi và cũng thường xuyên được bù trả lại bằng các thể đậm và các túi cầu từ màng nhân.

2.4.4. Chức năng của bộ Golgi

Nói một cách khái quát thì bộ Golgi chuyên trách việc tiếp nhận các protein và glycolipid hoặc cả carbohydrat từ hệ lưới nội sinh chất đưa tới, thuần thực hóa chúng rồi bao gói chúng lại để phân phát theo đúng địa chỉ tiếp nhận, có thể đó là các bào quan, có thể đó là phía ngoài tế bào. Người ta gọi chung các chất trên đây là chất tiết.

Sau đây là một số chức năng cụ thể:

- Góp phần tạo nên các tiêu thể.
- Glycosyl hóa hầu như tất cả các glycoprotein của chất nhầy (một loại chất tiết).
- Tạo nên thể đầu (acrosom) của tinh trùng.
- Sự thuần thực hóa có các phản ứng:

+ Glycosyl hóa các hợp chất protein và lipid.

+ Sulfat hóa các glycoprotein bằng gốc SO_4 – (este hóa).

+ Phosphoryl hóa.

+ Chuyển các phân tử protein sang cấu trúc bậc hai và bậc ba.

+ Gắn thêm các acid béo vào các chất đi qua dictiosom, polyme hóa các polysaccharid.

- Các chất tiết và có thể có cả chất độc được Golgi đưa ra khỏi tế vào bằng các túi Golgi có cấu tạo màng giống màng tế bào. Sau khi mở túi ra và chất tiết ra ngoài thì màng túi hòa vào màng tế bào, phía trong màng túi này thành phía ngoài màng tế bào và các cấu trúc carbohydrat trong màng túi đã trở thành cấu trúc carbohydrat của lớp áo tế bào, và có thể bộ Golgi là cơ quan tạo nên phần lớn cấu trúc áo tế bào.

- Với khả năng tạo các túi Golgi có cấu tạo màng khác nhau để rồi các túi đó hòa nhập với các màng có cấu tạo tương ứng, bộ Golgi trở thành bào quan biệt hóa các loại màng của tế bào.

2.5. Tiêu thể (lysosome)

Tiêu thể là bào quan tiêu hóa chính của tế bào. Một tế bào có nhiều tiêu thể kích thước không bằng nhau, nằm rải rác trong tế bào chất.

2.5.1. Cấu trúc và thành phần hóa học của tiêu thể

Nó là một túi cầu nhỏ chỉ bao bởi một lớp màng sinh chất nội bào. Thành phần hóa học gần giống với màng tế bào về tỷ lệ P/L nói chung, nhưng thành phần cholesterol chỉ bằng một nửa so với màng tế bào. Đặc biệt màng tiêu thể có một loại protein màng chuyên để bơm cation H^+ vào lòng tiêu thể để giữ cho độ pH trong tiêu thể luôn là 4,8 hoặc thấp hơn (pH tế bào chất là 7 đến 7,3).

Lòng tiêu thể chứa các enzym tiêu hóa gọi là enzym thủy phân acid. Gọi là acid vì chúng làm việc

trong điều kiện pH acid (≈ 5). Các enzym đó có thể quy về các nhóm chính sau đây:

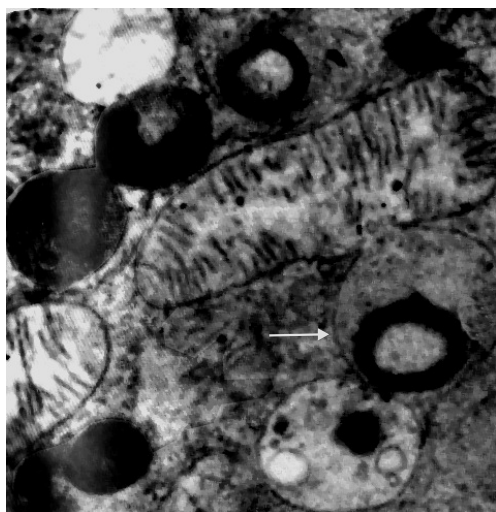
- Protease để thủy phân protein.
- Lipase để thủy phân lipid.
- Glucosidase để thủy phân glucid.
- Nuclease để thủy phân acid nucleic.

Và một số nhóm khác: phosphatase, phospholipase và sulfatase...

Sự có mặt của các enzym trên đây chứng tỏ tiêu thể có khả năng tiêu hóa tất cả mọi chất hữu cơ của tế bào. Sự tiêu hóa xong sẽ cho lại các đường đơn, các acid amin và các nucleotid. Các sản phẩm cuối cùng này lại được chuyển vào tế bào chất nhờ protein vận chuyển có ở màng tiêu thể. Các enzym thủy phân có ích cho quá trình tiêu hóa bao nhiêu thì nguy hiểm cho tế bào bấy nhiêu nếu chúng được tự do. Màng tiêu thể đã gói chúng lại, chính màng tiêu thể cũng là màng sinh chất nhưng lại trụ được không bị thủy phân kể cả khi enzym đã chuyển từ trạng thái bất hoạt sang trạng thái hoạt động.

Màng tiêu thể có tỷ lệ glycosyl hóa cao, có thể đây là cơ chế để màng tiêu thể không bị thủy phân. Tính chất chỉ hoạt động trong pH acid, tự nó cũng đã hạn chế khả năng thủy phân không đúng chỗ của enzym thủy phân, khi do một nguyên nhân nào đó, màng tiêu thể rách, enzym bị rơi vãi ra tế bào chất, pH = 7 của tế bào chất không cho phép enzym hoạt động. Tuy nhiên khi bị tác nhân kích thích hàng loạt tiêu thể bị vỡ cùng một lúc sẽ gây nên sự tiêu bào. Cũng có sự tiêu bào sinh lý để thanh toán những mô đã hoàn thành nhiệm vụ ví dụ như sự tự tiêu đuôi nòng nọc.

2.5.2. Sự hình thành tiêu thể và quá trình hoạt động của tiêu thể



Hình 1.8. Tiêu thể và nội thực bào

Enzym tiêu hóa hay enzym thủy phân acid được tổng hợp và đưa vào lòng lưới nội sinh chất có hạt, tại đây các protein enzym này được glycosyl hóa tại đầu mút N của phân tử nghĩa là tiếp nhận một oligosaccharid (đầu này sẽ làm tín hiệu dẫn đường để đưa enzym tới bộ Golgi). Sau khi được glycosyl hóa, enzym được đẩy đến rìa của lưới nội sinh chất có hạt để tạo thành các túi cầu chứa enzym lúc này mang tên là thể đậm. Thể đậm tìm đến phía lồi của bộ Golgi, nhập vào túi dẹt Golgi phía lồi. Tại đây enzym được phosphoryl hóa. Cụ thể là một hoặc vài đường mannose của chuỗi oligosaccharid trên enzym sẽ được phosphoryl hóa và cấu trúc này sẽ là tín hiệu dẫn đường cho túi cầu Golgi. Sự phosphoryl hóa này là điều kiện để cho enzym được các ổ tiếp nhận protein trên bề mặt trong các túi dẹt

Golgi có mang liên kết receptor - enzym thắt lại thành túi cầu Golgi chứa enzym. Điều chú ý là liên kết này được thực hiện khi mannose đã phosphoryl hóa và tại pH trung tính.

Túi cầu Golgi có tín hiệu mannose dẫn đường đi tiếp đến thể nội bào muộn và trao enzym cho thể nội bào muộn. Do độ pH của thể nội bào lúc này là acid cho nên liên kết phosphat bị cắt (phosphatase xúc tác), và liên kết receptor-enzym cũng bị cắt. Receptor được giải phóng vẫn gắn trên một phần màng còn lại của túi cầu Golgi, khép lại thành túi kín và quay trở về với túi dẹt Golgi để làm việc lại trong lần sau.

Quá trình nội thực bào đã tạo thể nội bào sớm. Thể nội bào sớm tách một số chất trở về màng tế bào, phần còn lại sẽ thành thể nội bào muộn. Túi cầu Golgi ở miền trans kết hợp với thể nội bào muộn; ở đây các chất cần tiêu hoá gặp enzym từ túi cầu Golgi đưa đến. Độ pH của thể nội bào muộn tiếp tục giảm, hình thành tiêu thể. Ngoài ra theo con đường tự thực bào hình thành các thể tự thực bào chứa các thành phần của tế bào cần thanh thải như ty thể, mảnh màng các bào quan... Các thể tự thực bào này kết hợp với tiêu thể hoặc thể nội bào muộn.

Các chất tới tiêu thể còn theo con đường thực bào từ các túi thực bào được hình thành theo con đường thực bào, chúng sẽ tới kết hợp với tiêu thể.

Tiêu thể khi gặp thể thực bào chứa thức ăn từ ngoài vào hoặc gặp thể tự thực bào chứa các mảnh màng lưới nội sinh chất có hạt hoặc các ty thể, không bào, trở thành tiêu thể dạng hoạt động. Tại tiêu thể, các enzym thủy phân dạng tiền thân (proenzym) gặp pH 4,8 bị giáng cấp thành các peptid ngắn hơn để trở thành các enzym thủy phân ở trạng thái hoạt động. Sự tiêu hóa tạo các đường đơn, acid amin và các nucleotid trao cho tế bào chất để tái tạo tế bào. Các chất cặn bã, chất độc được đưa vào túi Bài tiết để đưa ra khỏi tế bào theo cơ chế ngược lại với sự nội thực bào.

Sự tiêu hóa của các mảnh màng bị thanh thải được coi là sự làm trong sạch tế bào.

2.5.3. Bệnh của tiêu thể

Từ bệnh tiêu thể dựng để chỉ sự thiếu hụt hay sai sót bất thường của một enzym nào đó trong tiêu thể. Sự thiếu hụt enzym gây rối loạn trong chuyển hóa vật chất của cơ thể, nhiều trường hợp chỉ thiếu một enzym mà rất trầm trọng.

Một ví dụ: do thiếu enzym thủy phân tên là: N - acetyl - β - hexosaminidase A làm cho gangliosid (G_{M2}) tích tụ quá mức trong não gây rối loạn hệ thần kinh trung ương, chậm trí tuệ và chết ở tuổi thứ 5. Bệnh gọi là bệnh Tay - Sachs di truyền theo cơ chế gen lặn, NST thường, Gen bệnh được xác định ở nhánh dài NST 15 (15922).

2.6. Peroxysom

Nói tiêu thể là bào quan tiêu hóa chính vì còn bào quan tiêu hóa khác tên là peroxysom. Peroxysom chứa phần lớn catalase của tế bào. Ngoài catalase còn có enzym oxy hóa, không chứa enzym thủy phân acid. Các protein của peroxysom được tổng hợp tại ribosom tự do trong tế bào chất. Chúng có tín hiệu dẫn đường tới peroxysom. Sau khi đến nơi thì tín hiệu này tách ra bằng cơ chế thủy phân. Các enzym oxy hóa trong môi trường kiềm nhẹ. Hoạt động chủ yếu của peroxysom có liên quan tới H_2O_2 gồm cả phản ứng tổng hợp và phản ứng phân tích.

Cấu trúc siêu vi: là các túi hình bóng bao bọc bởi màng lipoprotein kích thước 0,15 - 1,7 micromet. Màng của peroxysom giống màng sinh chất, độ dày 6 - 8nm, bên trong túi có chất nền đồng nhất hoặc

các hạt nhỏ, các sợi. Trong peroxysom có chứa các enzym oxy hóa đặc trưng: catalase, D-aminoacid - oxydase urat oxydase.

Enzym catalase có vai trò phân giải peroxyt hydro (H_2O_2) biến chúng thành H_2O . Enzym D-aminoacid - oxydase tác động lên các D - acid amin một cách đặc trưng. Enzym urat oxydase (uricase) không có ở người và linh trưởng vì vậy acid uric không được phân giải cho nên nước tiểu của người và linh trưởng có uric, còn các động vật khác các peroxysom có uricase nên nước tiểu của chúng không có acid uric.

Chức năng chủ yếu: tham gia điều chỉnh sự chuyển hóa glucose và phân giải H_2O_2 ... thành H_2O nhờ enzym catalase.

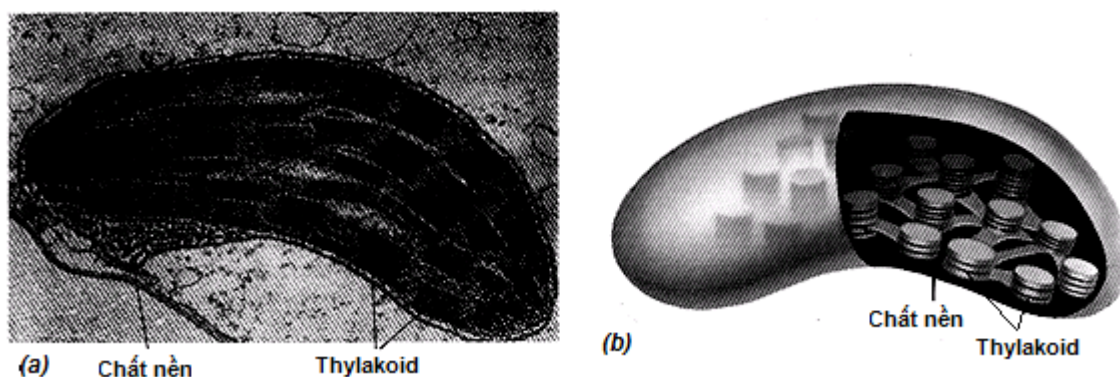
2.7. Lạp thể

Lạp thể là bào quan của tế bào thực vật chuyên trách việc tổng hợp nên carbohydrat từ các hợp chất vô cơ.

Loại lạp thể có màu đỏ hoặc màu vàng gọi là sắc lạp. Loại màu vàng chứa xantophyl, loại màu đỏ chứa caroten. Các chất màu này thu hút năng lượng ánh sáng mặt trời để chuyển năng lượng ấy vào trong chất carbohydrat mà sắc lạp tạo nên. Các chất màu này có khả năng thu loại ánh sáng yếu, ánh sáng ở tầng dưới bị sót lại sau khi chất màu diệp lục ở tầng lá trên đã thu hút trước. Vào mùa đông, cây khô lá vàng, mùa làm việc của sắc lạp.

Loại lạp thể quan trọng là lục lạp có màu lục, màu của chlorophyl hay diệp lục, loại chuyên thu hút ánh sáng mạnh của mặt trời.

2.7.1. Cấu trúc của lục lạp



Hình 1.9. Hình ảnh vi điện tử (a) và mô hình cấu tạo lục lạp (b)

Là một bào quan hình hạt và khác với mọi bào quan khác ở chỗ nó có ba lớp màng: màng ngoài, màng trong và màng túi hay màng thylakoid.

- Màng ngoài: có tính thấm cao.
- Màng trong: kém thấm hơn và mang các protein màng vận tải chuyên trách việc đẩy glyceraldehyt 3 - phosphat, sản phẩm glucid của lục lạp, ra khỏi lục lạp để vào tế bào chất.
- Màng thứ ba là màng quan trọng nhất của lục lạp gọi là màng túi hay màng thylakoid, tỷ lệ P/L rất cao (= 3).

Mặt ngoài màng túi tiếp xúc với lòng lục lạp (nền stroma).

Lòng lục lạp có độ pH = 8, chứa nhiều enzym tự do xúc tác quá trình tổng hợp glyceraldehyt 3 phosphat (P - GAL), chứa tạm thời P - GAL trước khi đẩy nó ra khỏi lục lạp, hoặc lưu giữ nó lâu dài dưới dạng tinh bột sau khi đã chuyển hóa nó thành glucose, rồi thành tinh bột.

Mặt trong của màng túi tiếp xúc với khoang túi nơi có pH = 5, điều này có liên quan mật thiết đến protein màng túi có bơm cation H^+ , bơm H^+ vào khoang túi giữ độ pH = 5 cho khoang túi. Màng túi được hình thành từ màng lục lạp trong. Màng lục lạp trong nhô ra và tách ra thành một hệ thống màng mới, thay đổi thành phần cấu trúc một cách căn bản. Nhìn khái quát ở kích thước siêu vi thì thấy những tấm túi mỏng xếp song song xen kẽ là các hạt gồm các túi hình đĩa xếp chồng lên nhau. Phần hình tấm mỏng cũng có khoang túi nhưng không gấp nếp, phần gọi là hạt cũng là màng túi nhưng gấp nếp nhiều lần tạo thành một chồng đĩa giống như hạt. Như đã nói, màng túi lục lạp chứa chlorophyl (diệp lục), chlorophyl là một protein xuyên màng túi được tổng hợp trong tế bào chất. Ngoài chlorophyl và các cái bơm H^+ là những hệ thống quang hợp, các chất nhận và truyền điện tử và những phức hợp ATP synthetase (CF_0 CF_1 ATP synthetase), một phức hợp gồm nhiều enzym có hình chùy, đầu hình chùy có đường kính 9nm. Phức hợp còn có tên là oxysom. Oxysom phosphoryl hóa ADP thành ATP, đây là những phân tử chứa đựng năng lượng dùng cho hoạt động của tế bào.

Chúng ta thấy hai hệ thống quang hợp 1 và 2 xen kẽ nhau trên màng thylakoid.

Hệ thống quang hợp 2 chứa sắc tố thu hút ánh sáng có bước sóng và độ dài bằng 680nm, còn hệ thống quang hợp 1 chứa sắc tố thu hút ánh sáng có bước sóng có độ dài bằng 700 nm. Do cường độ ánh sáng tự nhiên không hằng định, độ dài bước sóng ánh sáng biến động từ 600 - 700 nm. Sự phối hợp đồng thời các hệ thống quang hợp khác nhau cho hiệu quả quang hợp cao nhất.

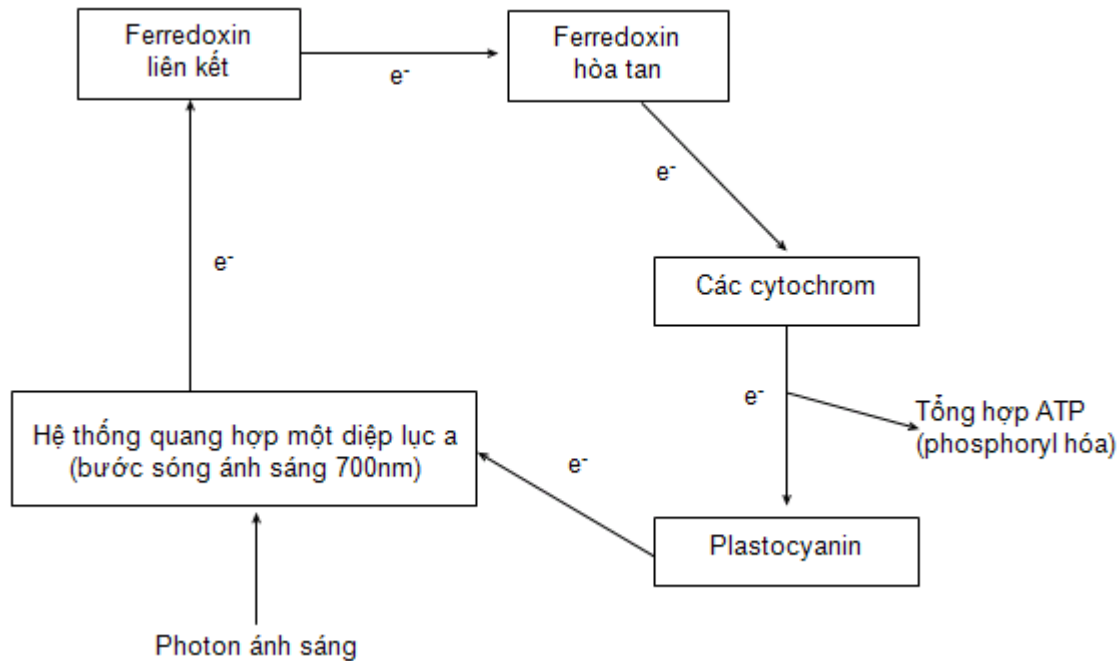
Chức năng của lục lạp hay là hiện tượng quang hợp:

Lục lạp là bào quan chuyên việc thu hút năng lượng ánh sáng mặt trời để một phần thì tổng hợp ngay ra các phân tử ATP và một phần tích lũy năng lượng vào trong các phân tử carbohydrat, sản phẩm chính của quá trình quang hợp. Quá trình có hai giai đoạn, giai đoạn tiến hành có ánh sáng và giai đoạn tiến hành không cần ánh sáng gọi là phản ứng tối.

2.7.1.1. Phản ứng sáng

Là một loạt các phản ứng hóa học của sự nhận truyền dẫn điện tử nhằm mục đích phosphoryl hóa ADP để tạo nên các ATP và khử các $NADP^+$ (hoặc các phân tử tương tự) để tạo nên các NADPH tiền đề cho phản ứng tổng hợp các carbohydrat.

- Phosphoryl hóa vòng: vòng có nghĩa là điện tử (e^-) bị bật ra từ phân tử diệp lục sau khi hoàn thành công việc lại quay về trả lại cho phân tử. Có thể tóm tắt quá trình trong sơ đồ sau:



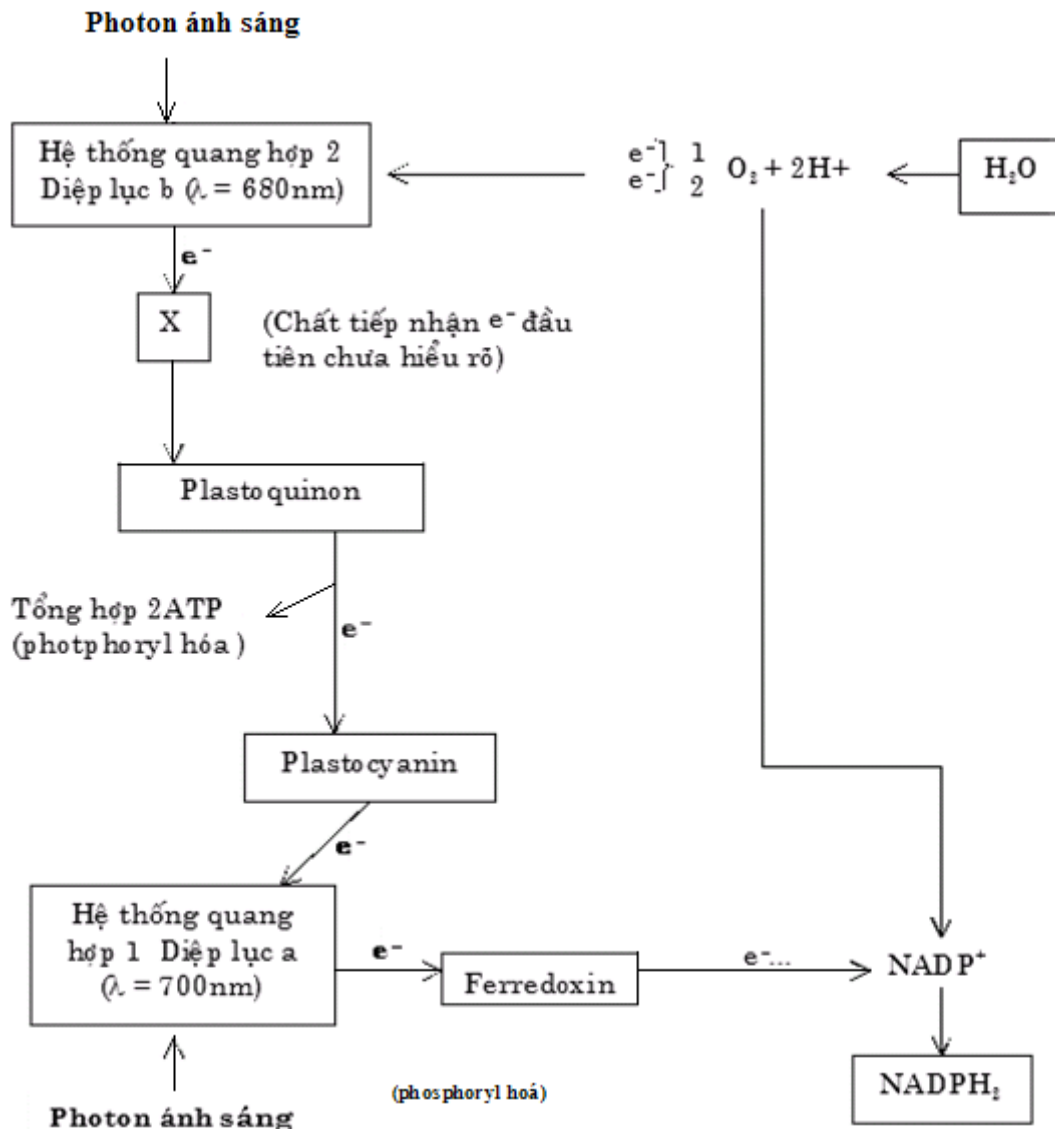
Hình 1.10. Sơ đồ phosphoryl hóa vòng – chỉ có hệ thống quang hợp

Phosphoryl hóa không vòng: không vòng có nghĩa là: điện tử (e^-) bị bật ra khỏi phân tử diệp lục lúc ban đầu, sau đó nhập vào một phân tử diệp lục khác, phân tử diệp lục cũ sẽ được cân bằng, bằng một điện tử lấy từ nước. Quá trình phosphoryl hóa không vòng diễn ra liên tiếp qua hai hệ thống quang hợp 2 và hệ thống quang hợp 1. Hệ thống 1 có diệp lục a, hấp thu ánh sáng có bước sóng 700 nm, hệ thống 2 có diệp lục b hấp thu ánh sáng có bước sóng 680 nm. Diệp lục a là sắc tố chính của quá trình quang hợp và thấy ở tất cả Eukaryota có quang hợp và có cả ở vi khuẩn lam.

Giải thích sơ đồ:

- Sơ đồ phosphoryl hóa vòng: do hệ thống quang hợp 1 phụ trách: tại đây một phân tử diệp lục a bị kích thích bởi ánh sáng, một điện tử (e^-) bị bật ra được chuyển tới ferredoxin, ferredoxin nhận và chuyển điện tử tới các cytochrom, sau đó chuyển tiếp cho plastocyanin, sự di chuyển của e^- tạo nên một thế năng được dùng để tổng hợp hai phân tử ATP ($2ADP + 2P + \text{năng lượng} = 2ATP$). Plastocyanin chuyển điện tử trả lại cho phân tử diệp lục a.

- Sơ đồ phosphoryl hóa không vòng: do hai hệ thống quang hợp 1 và 2 phụ trách: tại hệ thống quang hợp 2, phân tử diệp lục b bị kích thích bởi ánh sáng, một điện tử bị bật ra mang năng lượng cao được truyền tới một chất nhận đầu tiên tạm gọi là "X" vì chưa hiểu rõ. Chất "X" chuyển tiếp đến plastoquinon, plastoquinon vừa nhận và chuyển tiếp điện tử đến plastocyanin. Trên chặng đường này, điện tử trao năng lượng cao cho phản ứng phosphoryl hóa để thành lập 2 phân tử ATP.



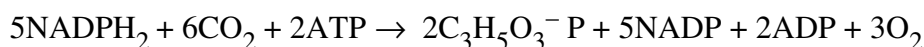
Hình 1.11. Sơ đồ phosphoryl hóa không vòng có hệ thống quang hợp 1 và 2

Điện tử được chuyển tiếp cho phân tử diệp lục của hệ thống quang hợp 1, phân tử diệp lục này đang bị mất một điện tử nay trở lại cân bằng. Sự mất điện tử của diệp lục a là vì bản thân nó cũng bị kích thích bởi ánh sáng và điện tử bị bật ra đi vào quy trình của hệ thống quang hợp 1. Điện tử được truyền đến ferredoxin rồi đến NADPH₂ với sự góp phần của 2H⁺ phân ly từ H₂O tạo nên các phân tử carbohydrat.

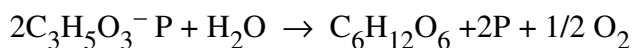
2.7.1.2. Phản ứng tối

2H

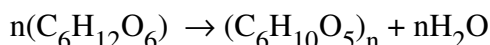
Phản ứng tối là các phản ứng quang hợp nhằm cố định CO₂ qua một loạt các phản ứng có xúc tác enzym gọi là chu trình Calvin. Quá trình cần năng lượng từ ATP và NADPH (hoặc NADPH₂). Các phản ứng xảy ra trong lòng lục lạp: các nguyên tử carbon của CO₂ nối với nhau và nối với H của NADPH đồng thời gắn với một nhóm phosphat. Sau đây là phản ứng tổng hợp:



C₃H₅O₃⁻ P là glyceraldehyt 3- phosphat (P – GAL) (3C) một số P – GAL sẽ được chuyển từ lục lạp ra tế bào chất, tại đây chúng sẽ trải qua những phản ứng nữa để cho glucose 6C.



Năng lượng tích lũy trong một phân tử glucose tương đương với một nhiệt lượng 780.000 calo; thực vật dự trữ glucose dưới dạng tinh bột:



2.7.2. ADN của lap thể

Lạp thể có ADN dạng vòng, dài khoảng 145.000 đôi base. Mã hóa các gen của tARN, rARN và mARN, tổng hợp nên các protein, ribosom riêng của mình. Có điều đặc biệt là một số loài thực vật có ADN lap thể có hai bản sao giống nhau trên cùng một vòng nhưng sắp xếp ngược chiều nhau đối với gen của rARN. Trong cùng một chi như chi đậu Hà Lan có loài chỉ có một bản sao ribosom, có loài lại có hai bản sao. Phần lớn protein của lap thể nhận từ tế bào chất. Lạp thể chỉ sinh ra từ lap thể. Tiền thân của lap thể là lap thể chưa thuần thực chứa ít protein màng túi, chỉ có màng ngoài và màng trong. Màng túi chưa phát triển, lòng lap thể nhỏ, khi ra ánh sáng lap thể sẽ phát triển dần.

2.8. Ty thể

Ty thể là bào quan tham gia quá trình hô hấp của tế bào, là những thể hình túi như quả bí đao nhỏ, có nhiều và rải rác khắp tế bào chất, đặc biệt tập trung nhiều ở các tế bào hoạt động mạnh. Tế bào gan động vật có vú có tới 1000 - 1500 ty thể.

2.8.1. Cấu trúc và thành phần hóa học của ty thể

Túi ty thể được bao bằng hai màng, chia ty thể thành hai phần cách biệt: khoảng gian màng và lòng ty thể.

2.8.1.1. Màng ty thể ngoài

Cũng là màng sinh chất: tỷ lệ P/L bằng 1. Tuy tỷ lệ này gần giống như tỷ lệ của màng tế bào nhưng thành phần bên trong có khác, cholesterol thấp, bằng 1/6 so với màng hồng cầu, (phosphatidylcholin cao gấp hai lần rưỡi so với màng tế bào).

Đặc biệt màng ty thể nói chung phải tiếp thu phần lớn protein ty thể sản xuất từ tế bào chất để xây dựng ty thể và để hoạt động, nên cấu tạo của màng ty thể ngoài có những phức hợp protein làm nhiệm vụ vận tải đặc hiệu protein vào ty thể, khi ở tế bào chất chúng mang một chuỗi acid amin ở phía đầu - N của sợi protein để làm tín hiệu dẫn đường. Sợi protein này hoặc nhờ tín hiệu dẫn trực tiếp đến màng ty thể trong hoặc ngoài để tích hợp vào màng lipid kép hoặc đi vào khoảng gian màng hoặc lòng ty thể; cách thứ hai là vẫn nhờ tín hiệu dẫn đường nhưng phải qua ổ thu nhận đặc hiệu trên màng ty thể ngoài; khi tín hiệu dẫn đường đã xong việc thì nó sẽ rời ra khỏi protein nhờ thủy phân, rồi giáng cấp trong lòng ty thể.

2.8.1.2. Khoảng gian màng



Xen kẽ giữa hai màng, môi trường gian màng tương tự và cân bằng với tế bào chất (khoảng gian màng chứa cytochrom c và b_2 , cytochrom peroxydase, các enzym sử dụng ATP từ lòng ty thể đi ra, để phosphoryl hóa các nucleotid nhưng không phải là adenin).

2.8.1.3. Màng ty thể trong

Màng ty thể trong, trừ một số ít trường hợp, tạo thành hình ống xoè kín lòng ty thể, các nếp gấp gọi là mào. Sự tăng số lượng mào nhằm tạo thêm diện tích làm việc của màng trong.

Màng trong cũng là một màng sinh chất nhưng P/L rất cao, bằng 3, cholesterol thấp, bằng một nửa so với màng ty thể ngoài, chứa một phospho – lipid gọi là cardiolipin với khả năng chặn ion H^+ lại. Protein có 3 nhóm:

- Nhóm vận tải đặc hiệu các chất chuyển qua lại màng trong.
- Phức hợp enzym ATP synthetase để tổng hợp ATP.
- Nhóm thực hiện các phản ứng oxy hóa của chuỗi hô hấp (nhận và chuyển điện tử, H^+ và oxy hóa H^+ .)

2.8.1.4. Lòng ty thể

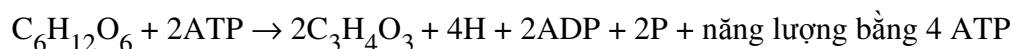
Lòng ty thể chứa nhiều loại protein khác nhau, phần lớn là enzym- protein do ty thể tự tổng hợp lấy nhờ ADN của mình và protein từ tế bào chất vào. Trong số các enzym có enzym oxy hóa pyruvat và các acid béo từ ngoài tế bào chất vào thành acetyl CoA, các enzym của chu trình Krebs, chuyển acid citric (C_2) thành CO_2 (C_1) và NADH. CO_2 sẽ đi ra khỏi ty thể, còn NADH sẽ đến màng ty thể trong để gặp chuỗi hô hấp.

2.8.1.5. Chức năng của ty thể hay quá trình hô hấp của tế bào

Loại hô hấp này được gọi là hô hấp ái khí nghĩa là có cần O_2 , gồm hai giai đoạn: giai đoạn phân ly glucose thực hiện trong tế bào chất và giai đoạn oxy hóa pyruvat thực hiện trong ty thể.

Sự phân ly glucose

Ở giai đoạn này, glucose 6 carbon bị tách ra làm đôi thành hai phân tử acid pyruvic 3 carbon. Phản ứng nhờ các enzym có trong tế bào chất. Phản ứng tổng quát như sau:



Phân tử glucose đã dùng hai phân tử ATP để cho hai phân tử acid pyruvic (pyruvat), năng lượng thu được là 4ATP trả lại 2ATP đã dùng, còn lại 2ATP.

- Chu trình Krebs:

Các phân tử pyruvat đi vào ty thể đồng thời với các acid béo chúng đi vào chu trình Krebs trong lòng ty thể. Pyruvat và acid béo được oxy hóa thành acetyl CoA (một hợp chất 2C) nhờ enzym pyruvat dehydrogenase.

Các phản ứng tóm tắt như sau:



Phản ứng này cũng sinh năng lượng và tạo nên 1 ATP nhờ phản ứng phosphoryl hóa kiểu như trong phân ly glucose. Phần lớn năng lượng vẫn còn nằm trong các điện tử ở NADH và $FADH_2$.

- Chuỗi hô hấp:

Chuỗi hô hấp chứa các phức hợp enzym lớn nằm trên màng trong của ty thể. Ba nhóm chính là:

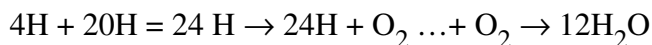
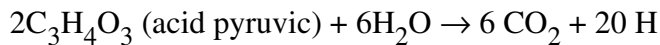
- NADH dehydrogenase tiếp nhận e^- từ NADH, chuyển e^- cho ubiquinon. Ubiquinon truyền tiếp

cho phức hợp cytocrom b – c₁, phức hợp này lại chuyển cho cytocrom c. Cytocrom c truyền tiếp cho phức hợp cytocrom oxydase và cuối cùng truyền từng e⁻ một cho từng phân tử O₂ để tạo nên một phân tử H₂O.

Viết gọn lại ta có:

NADH → NADH dehydrogenase → Ubiquinon → phức hợp cytocrom b – c₁ → cytocrom c → Phức hợp cytocrom oxydase → O₂. Đây là quá trình nhận và chuyển điện tử theo một hướng nhất định, quá trình này diễn ra đồng thời với sự đẩy của proton (H⁺) ra khỏi lòng ty thể. Gradient proton điện hóa học (hiệu thế do chênh lệch nồng độ H⁺), mà chuỗi hô hấp đã tạo nên được sử dụng để thành lập các ATP nhờ phức hợp protein xuyên màng ATP synthetase.

Công thức tóm tắt như sau:



Năng lượng được giải phóng khỏi pyruvat trong ty thể tương đương với 36 ATP. Cộng với 2 ATP do phân ly glucose được tất cả là 38 ATP. Đó là số ATP tổng cộng do oxy hóa một phân tử glucose trong tế bào.

Biết rằng khi hình thành một phân tử ATP cần 8 Kcal. Vậy cứ 38 ATP tạo 8Kcal x 38 = 304 Kcal.

Khi một phân tử glucose cháy tự do cho 688.000 cal (688Kcal). Vậy năng suất sinh học của một phân tử glucose là:

$$\frac{304}{688} = 44\%$$

Trong thực tế còn bị tiêu hao dưới dạng nhiệt và chỉ còn dưới 10%.

Quá trình tổng hợp ATP từ ADP xảy ra trong ty thể gọi là sự phosphoryl hóa oxy hóa. Sự tổng hợp tỷ lệ với sự tiêu thụ oxy trong tế bào. Thiếu oxy thì sự tổng hợp ATP giảm.

Ở vi khuẩn ái khí không có ty thể. Các phức hợp phân tử thực hiện sự hô hấp của tế bào nằm trong màng vi khuẩn.

2.8.1.6. ADN ty thể

Ty thể cũng sinh sản kiểu nhân đôi (phân chia) như tế bào. Chúng có ADN riêng, có ribosom riêng tuy không đủ cho toàn bộ nhu cầu về protein của chúng. Sự phân chia của ty thể không theo cùng nhịp điệu của phân bào của tế bào mang

ty thể.

ADN của ty thể giống như ADN của vi khuẩn, hình vòng có một hoặc hai vòng trong một ty thể, tự do trong lòng ty thể hoặc có khi bám vào màng ty thể trong.

Ở người, bộ gen của ty thể rất ổn định, có chút ít đa hình mang tính chủng tộc. Và điều độc đáo nhất là tuy cũng là một phân tử ADN sợi kép hình vòng như vi khuẩn nhưng điều khác là cả hai vòng đơn đều có gen mã hóa độc lập với nhau. Các bộ ba mã hóa có vài chi tiết không phổ biến. Ví dụ UAG thì mã hóa tryptophan chứ không phải là mã chấm câu. AGA và AGG thì lại để chấm câu chứ không mã hóa ra arginin.

Phần lớn protein của ty thể (khoảng 9/10) là do nhân tế bào phụ trách. Ty thể tự mã hóa khoảng trên 10% protein của mình. ADN của ty thể người dài 16.569 đôi base, chứa các gen của rARN 12S và 16S,

2hai loại tARN, các phân đơn vị I, II, III của cytochrom oxydase, phân đơn vị ATPase, cytochrom b và 8 gen protein khác. Khi có đột biến gen trong ty thể cũng gây nên khuyết tật protein đặc biệt là các enzym liên quan đến năng lượng sẽ gây nên các bệnh di truyền. Một số bệnh đã được phát hiện có liên quan đến thần kinh và cơ.

2.8.1.7. Cơ chế di truyền của ADN ty thể: ở người, noãn bào có rất nhiều ty thể, tinh trùng chỉ có 4 cái (do nhiều cái hợp lại) quần quanh cổ tinh trùng, khi thụ tinh thì ty thể tinh trùng ở lại không vào noãn bào, có nghĩa là trong hợp tử chỉ có toàn là ty thể của noãn bào và mọi tế bào cơ thể về sau đều mang ty thể nguồn gốc từ mẹ. Và nếu có bệnh do đột biến gen ty thể thì bệnh đó chỉ do mẹ truyền cho mà thôi. Tính trạng đó được di truyền theo dòng mẹ và phân bố giống nhau ở con trai cũng như con gái.

ADN ty thể có vai trò chính trong cơ chế di truyền dòng mẹ nhưng cũng có ngoại lệ như người ta đã thấy có một loài chân hình riu (ngành Thân mềm) vai trò của ADN ty thể của bố và mẹ là ngang nhau ở thế hệ con.

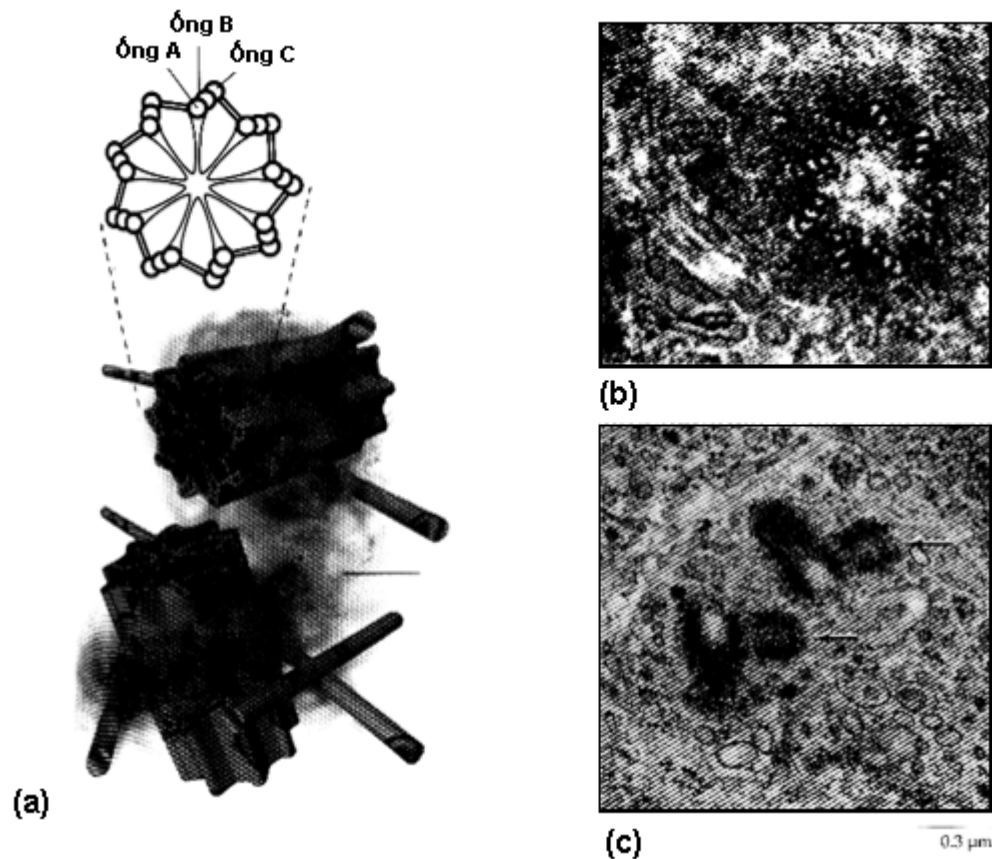
Do một tế bào chỉ có một bộ phận gen trong nhân mà lại có đến hàng ngàn ty thể cho nên xác suất để ADN ty thể tồn tại khi tế bào bị hủy hoại (kể cả khi bị đốt cháy), cao hơn nhiều so với ADN nhân. Người ta đã vận dụng chi tiết này để xác định cá thể, cụ thể các nạn nhân bị chết cháy tập thể.

2.8.1.8. Tính chất nửa tự trị của ty thể: người ta thấy cấu trúc của ty thể giống như Prokaryota nên người ta nghĩ rằng từ xa xưa những tế bào Prokaryota đã xâm nhập vào tế bào chất của tế bào Eukaryota, và cộng sinh với nhau. Một số gen của ty thể tách dần và sát nhập vào bộ gen của tế bào chủ. Ngày nay, ty thể chỉ còn lại một phần nhỏ số gen riêng của mình mã hóa cho protein riêng của mình theo kiểu độc lập một phần về phương diện di truyền. Người ta gọi hiện tượng này là tính chất nửa tự trị của ty thể.

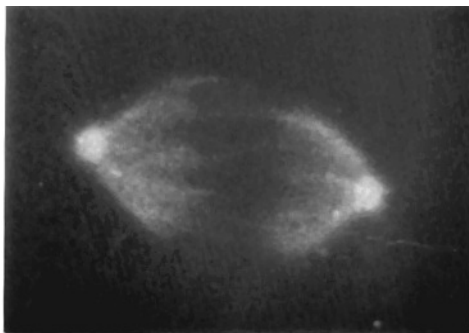
2.9. Trung thể

Trung thể có ở mọi tế bào động vật (trừ tế bào thần kinh) có ở tế bào thực vật bậc thấp, không có ở tế bào Prokaryota và thực vật bậc cao hay nói một cách khác có ở mọi loài sinh vật bậc cao có ít nhất một giai đoạn có tế bào di động.

2.9.1. Cấu trúc trung thể: trung thể bao gồm hai trung tử và chất quanh trung tử. Thường trung thể nằm gần nhân tế bào, và đôi khi kề với bộ Golgi. ở một số tế bào biểu mô, trung thể không nằm cạnh nhân và bộ Golgi mà nằm mãi phía sát màng tế bào.



**Hình 1.13. Mô hình cấu tạo trung thể (a)
Hình hiển vi điện tử của trung thể (b,c)**



Hình 1.14. Trung thể và thoi vô sắc

Ở hình hiển vi điện tử, mỗi trung tử có hình như một mẫu bút chì đường kính khoảng 150nm, và dài từ 300 đến 500nm, một đầu kín và một đầu hở. Thường thì trong lòng của mẫu hình ống của trung tử ấy có chứa dịch, trong dịch có nhiều hạt lấm tấm màu đậm. Thành ống làm bằng 9 tấm protein, mỗi tấm protein là một cấu trúc sợi dọc xếp song song: gồm 3 ống vi thể xếp liền nhau, trên lát cắt ngang thấy có ba khoanh tròn xếp thành một hàng. Ống vi thể gần tâm trung tử nhất gọi là ống A, hai ống kia gọi là ống B và ống C. Các tấm protein không nối nhau mà xếp cách đều nhau sao cho các ống A đều nằm trên một vòng tròn (hình cắt ngang) và mặt tấm sườn làm cùng mặt phẳng tiếp tuyến với vòng tròn ấy một góc bằng 30^0 . Ống A của tấm protein này nối với ống C tấm protein cạnh nó bằng một nhóm ống

protein xen kẽ. Nhìn trên lát cắt các tấm protein xếp theo hình 9 cánh.

Cấu trúc 9 tấm protein và ruột rỗng gọi là cấu trúc 9 + 0. Hai trung tử bao giờ cũng vuông góc với nhau. Thực vật bậc cao không có trung tử nhưng vẫn có thoi vô sắc, không có sợi sao.

2.9.2. Sự hình thành trung thể

Ở những tế bào mà sự phân bào cần đến trung thể thì ở kỳ đầu phân bào trước khi xuất hiện thoi vô sắc thấy xuất hiện thêm một trung thể mới bên cạnh trung thể cũ. Mới đầu khi bắt đầu xuất hiện thấy tiền thân các trung tử, từ ngắn đến dài dần ra, các ống vi thể cũng hiện rõ dần ra, kiểu như được tổng hợp dần. Hiện tượng trung thể mới sinh ra ngay cạnh trung thể cũ làm cho người ta tưởng nhầm là trung thể có ADN riêng nhưng không phải như vậy. Sau khi đã hình thành xong trung thể mới di chuyển về cực đối diện với cực tế bào mà trung thể cũ đang đứng. Liên sau đó là sự xuất hiện các sợi vô sắc từ khu vực quanh trung tử tạo thành một hệ thống sợi hình thoi là cơ sở cho sự chia đôi số lượng các nhiễm sắc thể lúc phân bào. Quanh trung tử có các sợi ngắn gọi là sợi sao. Thực vật không có sợi sao.

Ngày nay các nhà tế bào học gọi trung thể là trung tâm tổ chức ống vi thể MTOC (microtubule organizing centre).

2.9.3. Chức năng của trung thể

Ở những sinh vật mà tế bào có trung thể thì trung thể có vẻ như rất quan trọng trong việc làm mốc thoi vô sắc để đảm bảo sự chia đôi bộ nhiễm sắc thể đúng số lượng và đúng hướng. Song ở thực vật bậc cao nơi mà hạt phấn thụ tinh nhờ gió đã thay cho tinh trùng phải bơi lội để thụ tinh thì không có trung thể, thoi vô sắc vẫn làm chức năng một cách chính xác.

Ở động vật nguyên sinh, trung thể tham gia vào sự di động của tế bào.

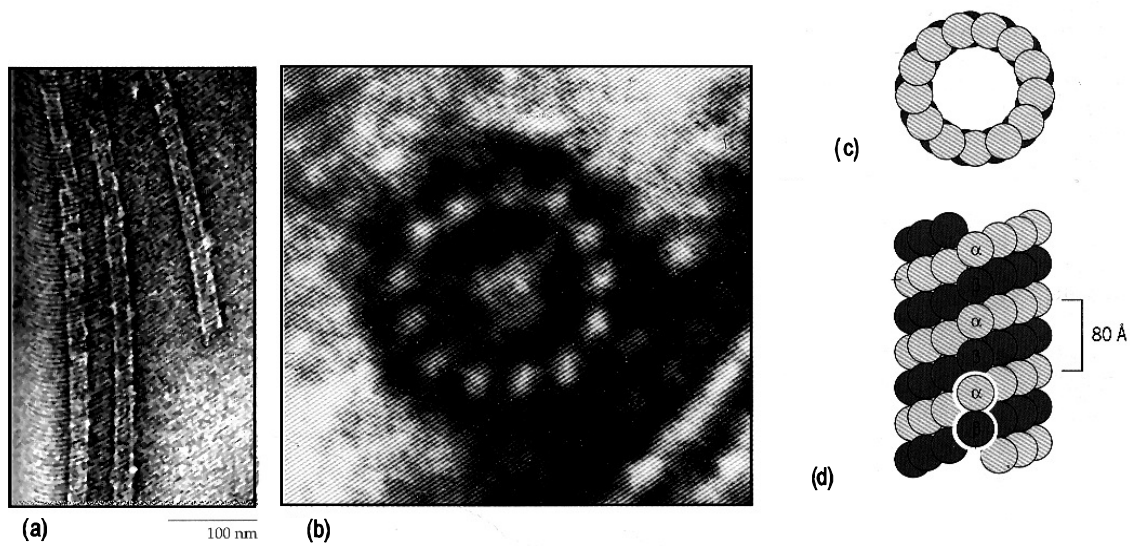
2.10. Bộ khung xương tế bào (cytoskeleton)

Trong tế bào chất, ngoài các bào quan còn có hệ thống các ống vi thể (microtubule) các sợi vi thể (microfilament) và sợi trung gian (intermediate filament: IF) tạo nên khung xương của tế bào.

2.10.1. Các ống vi thể

2.10.1.1. Cấu tạo

Các ống vi thể là những ống hình trụ dài đường kính trung bình 24nm có thành bên dày 5nm và rỗng ở giữa, chiều dài thay đổi có khi dài tới vài μm , không phân nhánh. Các ống vi thể có thể ở dạng tự do phân bố trong tế bào chất tạo nên sao và thoi phân bào. Các ống vi thể được cấu tạo từ protein tubulin α và β ; các protein này kết hợp với nhau tạo các sợi protein, các sợi protein tạo thành ống vi thể. Thành của ống vi thể thường có 13 sợi protein (có thể thay đổi 9 - 14 sợi) trong cấu trúc sợi protein có trung tâm liên kết với ATP, trung tâm liên kết với các chất ức chế alcaloid (colchicin, vinblastin...) vì vậy khi dùng các chất colchicin... nó ức chế sự tạo thành thoi phân bào.



Hình 1.15. Hình hiển vi điện tử (a, b) và mô hình cấu trúc ống vi thể (c, d)

2.10.1.2. Chức năng

Tạo nên khung xương tế bào, duy trì hình dạng tế bào, duy trì vị trí các tổ chức khác trong tế bào chất.

Vận tải nội bào: các bào quan, các hạt sắc tố... di chuyển trong tế bào chất là nhờ hoạt động của ống vi thể.

Tham gia sự vận động, sự biệt hóa tế bào. Nhiều tế bào biệt hóa có hình dạng nhất định mà hình dạng đó được duy trì nhờ sự sắp xếp của các hệ thống ống vi thể.

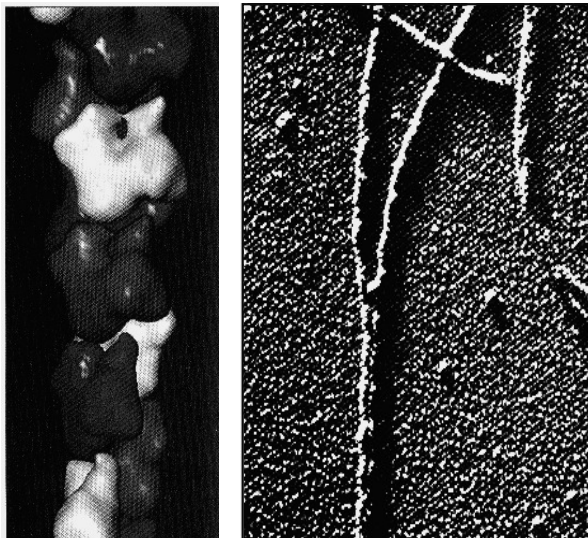
Các ống vi thể có thể lập thành cấu trúc ổn định như trung tử, có vai trò quan trọng trong phân bào giảm nhiễm, nguyên nhiễm.

Ống vi thể còn là những thành phần cấu tạo nên lông roi và những yếu tố vận động của cấu trúc lông, roi.

Trong tế bào chất có nhiều ống vi thể. Khi xử lý bằng colchicin thì ống vi thể bị biến mất, tế bào trở nên tròn, đa giác.

2.10.2. Các sợi vi thể

Gồm có sợi vi thể actin, sợi vi thể myozin



2.10.2.1. Sợi vi thể actin: được cấu tạo chính bởi protein actin. Có hai dạng actin: actin G và actin F. Actin G hình cầu; actin F hình sợi được tạo thành do sự trùng hợp các actin G tạo nên.

Mỗi sợi vi thể actin gồm hai chuỗi do nhiều phân tử actin xoắn nhau, sợi xoắn kép có đường kính gần bằng 8nm bước xoắn dài 72nm.

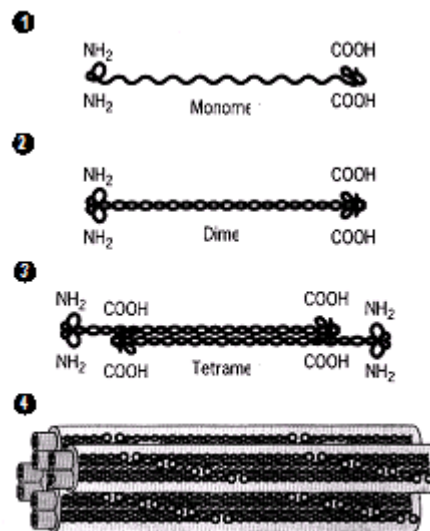
Sự tạo nên sợi actin F là quá trình thuận nghịch. Sự hình thành sợi actin được điều chỉnh tại những nơi, những lúc tế bào cần; sợi vi thể actin có vai trò nâng đỡ, cố định màng sinh chất. Sợi vi thể cũng là thành phần tạo nên khung xương tế bào.

2.10.2.2. Sợi vi thể myozin: là các sợi vi thể được cấu tạo từ protein myozin. Phân tử có 6 cạnh, 6 mạch polypeptid: 2 mạch nặng, 2 đôi mạch nhẹ, các sợi myozin phân bố trong tế bào chất thường ngắn, trong sợi cơ thường có chiều dài lớn có thể đạt 1,5 micromet.

Các sợi vi thể myozin không chỉ có trong tế bào cơ mà còn có trong các tế bào khác. Các sợi myozin liên kết với các sợi actin đảm bảo tính vận động của tế bào.

2.10.3. Sợi trung gian

Kích thước xấp xỉ 10 nm, dày hơn sợi vi thể, nhỏ hơn ống vi thể. Chúng được cấu tạo bởi nhiều loại protein khác nhau. Sợi trung gian chứa keratin thấy trong tế bào biểu mô. Sợi trung gian cấu tạo nên sợi thần kinh có protein loại NF - L; NF - M; NF - H; (Neurofilament protein (NF), loại L; M; H). Các sợi trung gian có protein lamin: lamin A, lamin B, lamin C, tạo nên lamina của màng nhân thấy trong các loại tế bào.



Hình 1.17. Mô hình cấu trúc sợi trung gian

Các sợi trung gian đều có cấu tạo phức tạp, gồm nhiều sợi xếp xoắn nhau theo nhiều bậc.

Chức năng: góp phần tạo nên khung xương tế bào

2.11. Không bào

Nếu lấy tiêu chuẩn là một cấu trúc trong tế bào chất được giới hạn bằng màng sinh chất nội bào thì có thể coi không bào như một bào quan.

Ở một số động vật đơn bào, không bào là bào quan thực sự, ví dụ không bào tiêu hóa, không bào Bài tiết, điều tiết nước cho tế bào. ở thực vật, không bào chứa chất dự trữ, nói chung chúng đều chứa đầy dịch.

2.12. Các thể vùi

Thể vùi có trong tế bào chất, nhưng không được bao bọc bởi màng, trừ trường hợp chúng được chứa trong không bào.

Thể vùi hay gặp ở tế bào động vật là các phân tử glycogen, một loại đường dự trữ có nhiều trong tế bào gan, cơ. ở con vật có chế độ ăn tốt, glycogen có thể lên tới 10% trọng lượng khô của gan.

Tế bào mô mỡ chứa những giọt lớn các triacylglycerol, là một dạng dự trữ của acid béo.

Ở tế bào thực vật hay gặp tinh bột, đường dự trữ của tế bào. Các chất dự trữ này khi được chuyển hóa sẽ cho ATP.

Ngoài ra còn chứa nhiều enzym, các phức hợp multienzym lớn, xúc tác các phản ứng chuyển hóa trong tế bào chất.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày cấu trúc, chức năng protein màng tế bào.
2. Trình bày cấu trúc, chức năng lipid màng tế bào.
3. Trình bày cấu trúc, chức năng carbohydrat màng tế bào. Nêu sự hình thành màng tế bào.
4. Trình bày chức năng của màng tế bào.
5. Trình bày cấu trúc, thành phần hóa học của ribosom.
6. Trình bày cấu trúc, thành phần hóa học và chức năng của lưới nội sinh chất có hạt.
7. Trình bày cấu trúc thành phần hóa học và chức năng của lưới nội sinh chất nhẵn.
8. Trình bày cấu trúc bộ Golgi - Sự phân cực và thành phần hóa học của bộ Golgi.
9. Trình bày chức năng của bộ Golgi và sự hình thành bộ Golgi.
10. Trình bày cấu trúc và thành phần hóa học của tiêu thể.
11. Trình bày sự hình thành tiêu thể và quá trình hoạt động của tiêu thể.
12. Trình bày cấu trúc và thành phần hóa học của ty thể; ADN ty thể (cơ chế di truyền ADN ty thể và tính chất nửa tự trị của ty thể).
13. Trình bày chức năng của ty thể.
14. Trình bày cấu trúc, sự hình thành và chức năng của trung thể.
15. Trình bày cấu trúc, và chức năng của ống vi thể.
16. Trình bày cấu trúc và chức năng của sợi vi thể và sợi trung gian.

Bài 3

CẤU TRÚC VÀ CHỨC NĂNG CÁC THÀNH PHẦN CỦA NHÂN TẾ BÀO EUKARYOTA

MỤC TIÊU

Trình bày được cấu trúc và chức năng các thành phần chính của nhân tế bào.

1. HÌNH DẠNG

Nhân tế bào có nhiều dạng khác nhau. Thông thường có dạng hình cầu trong tế bào biểu mô hình khối, hình đa giác hoặc hình thuôn dài trong tế bào cơ trơn, hình đĩa trong tế bào biểu mô lát. Nói chung, hình dạng của nhân thường phụ thuộc vào hình dạng tế bào, nhưng đôi khi cũng có hình dạng khác với hình dạng tế bào. Ví dụ: tế bào bạch cầu hạt có nhân hình chùy và chia nhánh, tế bào tuyến tụy của tằm hình khối vuông có nhân hình phân nhánh.

Hình dạng của nhân có thể thay đổi theo tuổi của tế bào và liên quan đến hoạt động của tế bào. Những tế bào hoạt động mạnh nhân trở nên lớn hơn và có dạng chia nhánh hoặc chia thùy.

2. KÍCH THƯỚC

Kích thước của nhân thay đổi tùy theo từng loại tế bào. Những tế bào nhầy của tuyến nước bọt, nhân có kích thước rất nhỏ. Trong khi đó những tế bào nhiều cực ở sừng trước của tủy hoặc tế bào hình tháp có nhân đặc biệt lớn.

Mỗi kiểu tế bào có một tỷ lệ kích thước nhất định giữa nhân và tế bào chất. Sự thay đổi tỷ lệ này dẫn tới sự phân bào hay hủy hoại tế bào.

3. SỐ LƯỢNG

Mỗi tế bào thông thường có một nhân, đôi khi có nhiều hơn, ví dụ: tế bào gan có hai nhân (chiếm tỷ lệ 15% tổng số tế bào gan).

Có những tế bào đa nhân với các tên gọi là cộng bào hay hợp bào tùy thuộc vào cách thức hình thành.

Cộng bào là hiện tượng có sự phân chia nhân nhưng không chia tế bào chất.

Hợp bào sinh ra do hợp nhất nhiều tế bào thành một khối chung (ví dụ: những tế bào hủy xương do hợp nhất của nhiều tế bào tạo xương).

Tế bào hồng cầu trong máu ngoại vi ở động vật có vú không có nhân.

4. CẤU TRÚC CỦA NHÂN TẾ BÀO

Các thành phần chính của nhân tế bào là: màng nhân, dịch nhân, nhiễm sắc thể và hạch nhân.

Dưới kính hiển vi điện tử cho thấy màng nhân được cấu tạo bởi hai màng đồng tâm gồm màng nhân ngoài và màng nhân trong.

4.1. Màng nhân ngoài

Là một màng sinh chất nội bào kiểu như màng lưới nội sinh chất có hạt. Về thành phần hóa học thì lại giống với màng lưới nội sinh chất nhẵn nghĩa là cholesterol chiếm 10%. Thành phần lipid và các thành phần lipid khác gần giống như lưới nội sinh chất nhẵn. Màng nhân ngoài có thể được coi như một vùng đặc biệt của màng lưới nội chất, cũng như màng của lưới nội sinh chất có hạt là trên bề mặt của màng nhân ngoài rải rác có các hạt ribosom bám vào. Những protein được tổng hợp trên những hạt ribosom này được vận chuyển vào trong khoảng quanh nhân hoặc đi vào trong lòng của lưới nội chất. Màng nhân ngoài nối liền với màng lưới nội sinh chất.

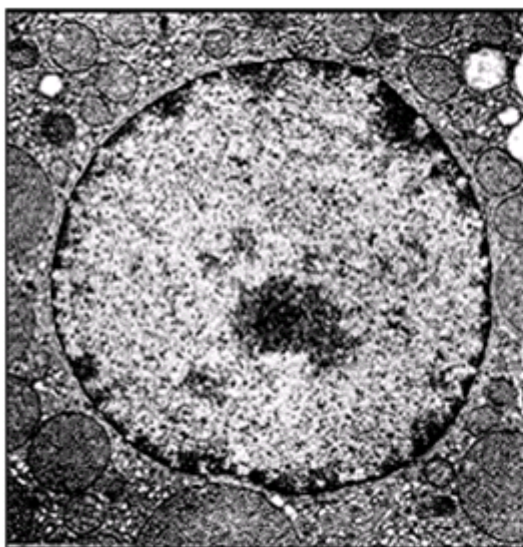
Về chức năng, nó phụ trách việc tái tạo màng nhân, tham gia tổng hợp màng lưới nội sinh chất và các màng nội bào khác kể cả màng tế bào cùng với lưới nội sinh chất. Cách tạo màng của nó là gửi tới nơi cần những mảnh màng mới tạm thời cuộn lại thành các túi hình cầu giống như các túi vận tải nội bào.

4.2. Khoảng quanh nhân

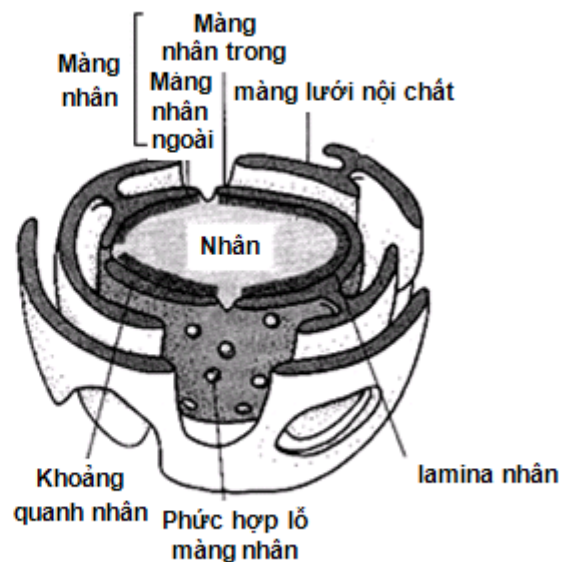
Giữa hai lớp màng nhân ngoài và màng nhân trong là khoảng quanh nhân, bề dày không đều từ 10 - 15nm. Khoảng này thông với lưới nội sinh chất có hạt và thông ra ngoài tế bào. Vật chất bên trong di chuyển theo hai chiều giữa khoảng quanh nhân.

4.3. Màng nhân trong

Màng nhân trong gồm hai phần, phần màng sinh chất giống màng sinh chất của màng nhân ngoài, mặt phía trong của màng nhân được lót bởi lamina. Lamina là một mạng lưới protein dày từ 10 - 20nm, bao gồm những lỗ mắt cáo vuông do những sợi trung gian tạo thành. ở động vật có vú, lamina được tạo thành từ ba loại protein FI (Intermediate Filaments) được biết dưới cái tên là laminin A, B và C. Các laminin được cấu tạo thành hai phần: phần hình que và hai đầu hình cầu ở một đầu mút của chúng. Lamina lát ở phía trong màng nhân nhưng vẫn để chừa các lỗ màng nhân lại.



A. Hình hiển vi điện tử của nhân tế bào



B. Sơ đồ màng kép của nhân tế bào

Hình 1.18. Hình hiển vi điện tử (A) và sơ đồ màng kép (B) của nhân tế bào và lưới nội sinh chất có hạt

Lamina có tác dụng như giá đỡ cho màng nhân đồng thời là nơi bám của các sợi chromatin ở vùng ngoại vi của nhân.

4.4. Lỗ màng nhân

Màng nhân của tất cả Eukaryota từ nấm đến loài người đều có lỗ. Số lượng lỗ màng nhân thay đổi tùy theo từng loại tế bào.

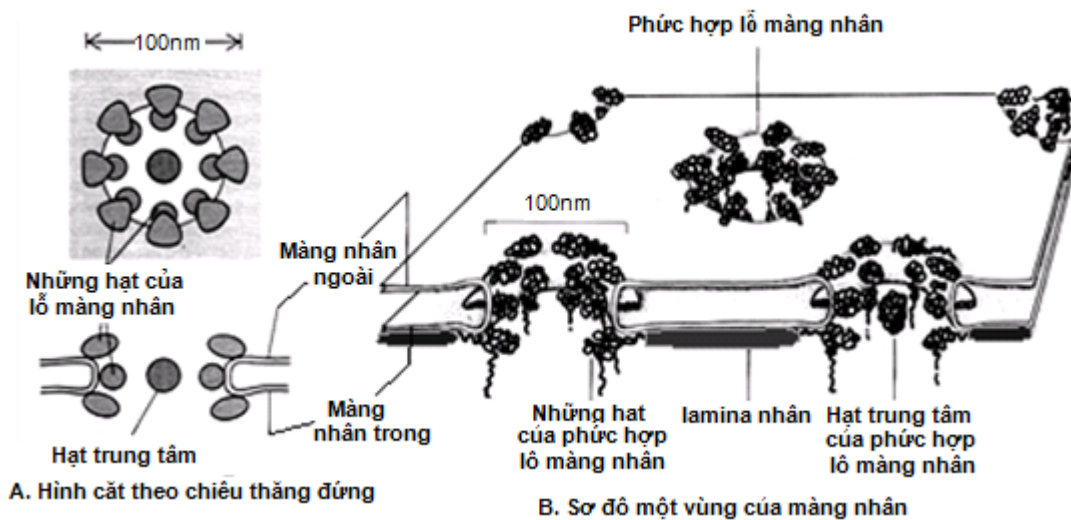
Ví dụ: hồng cầu chim có khoảng 4 - 6 lỗ/ μm^2 , ở động vật có vú mỗi tế bào có từ 3000 đến 4000 lỗ màng nhân, khoảng 11 lỗ/ μm^2 .

Mỗi lỗ được gắn trong một cấu trúc kích thước lớn theo hình đĩa tạo nên phức hợp của lỗ màng

nhân có trọng lượng phân tử lớn. Thành phức hợp của lỗ màng nhân được hình thành do nối liền màng nhân ngoài và màng nhân trong. Mỗi phức hợp lỗ được cấu tạo bởi một nhóm hạt protein kích thước lớn hình thành tám cạnh, gồm 3 vòng hạt được đính trên thành phức hợp của lỗ màng nhân và có hình chiếu trùng nhau.

Lỗ được định vị ở trung tâm của mỗi phức hợp lỗ màng nhân là một cái kênh có nước và nhờ cái kênh này, những phân tử hòa tan trong nước được di chuyển qua lại giữa nhân và tế bào chất. Lỗ có đường kính 9 nm và chiều dài 15 nm, lỗ này thường xuyên bị tắc do một hạt trung tâm lớn, hạt trung tâm được hình thành từ hạt ribosom mới được tổng hợp hoặc những phân tử khác chiếm giữ trong lòng ống. Các chất có kích thước lớn qua lại màng phải có sự tham gia của các protein xung quanh lỗ để mở rộng kích thước của lỗ.

Một số lượng lớn protein được tổng hợp ở tế bào chất được vận chuyển qua màng nhân tham gia vào sự nhân đôi, phiên mã, cấu tạo ribosom ở bên trong nhân. Phân tử mRNA, tARN và các phân đơn vị của ribosom được hình thành trong nhân phải được chuyển qua màng nhân theo chiều ngược lại. Một số thành phần SnARN (Small nuclear ARN) di chuyển theo hai chiều, chúng được tổng hợp trong nhân và kết hợp tạo thành những phân tử RNP (Ribo nucleoprotein) ở tế bào chất và sau đó lại được gửi trở lại nhân để thực hiện chức năng thuần thực mRNA. Tất cả mọi sự qua lại này đều được thực hiện qua lỗ màng nhân.



Hình 1.19. Sơ đồ phức hợp lỗ màng nhân

4.5. Dịch nhân

Dịch nhân chứa nguyên liệu và nhiều loại protein tham gia vào mọi chức năng đặc biệt, bao gồm các loại histon, ADN polymerase, ARN polymerase, các protein điều chỉnh gen và các enzym thuần thực ARN. Gần đây người ta phát hiện được sự có mặt của một hệ thống các sợi protein các loại trong số đó có actin, hệ thống này được gọi là khung xương của nhân. Một số bộ phận của khung xương thì neo với lamina, số khác có thể liên kết với các vùng nhất định của chromatin. Có thể khung xương này cùng với lamina tạo thành một phức hợp có chức năng điều chỉnh sự biểu hiện của gen và chuyển các ARN ra tế bào chất. Phức hợp điều chỉnh này có thể có liên hệ chức năng với khung xương của tế bào chất và cả với màng tế bào.

4.6. Nhiễm sắc thể

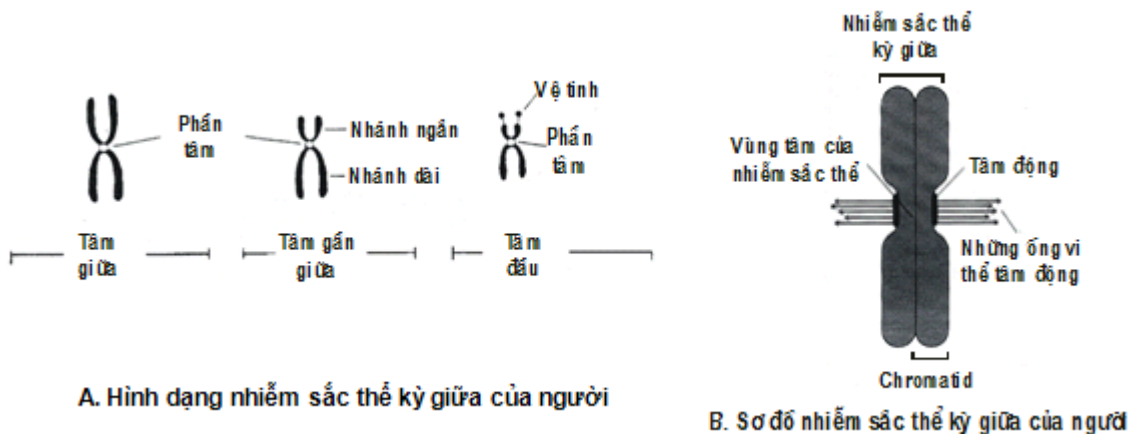
Các nhiễm sắc thể của Eukaryota có cấu trúc phức tạp được coi là nơi tập trung thông tin di truyền của tế bào và cơ thể sinh vật. Nó chỉ tồn tại về hình thái dưới kính hiển vi quang học trong thời kỳ phân bào từ cuối kỳ đầu đến đầu kỳ cuối.

Số lượng nhiễm sắc thể: tế bào sinh dưỡng Eukaryota có $2n$ nhiễm sắc thể, mỗi bộ gồm n nhiễm sắc thể khác nhau. Số n là hằng định trong cùng một loài nhưng khác nhau ở những loài khác nhau.

ở người, trong mỗi tế bào có $2n = 46$ bao gồm 23 cặp nhiễm sắc thể (22 cặp nhiễm sắc thể thường và một cặp nhiễm sắc thể giới tính). ở nam giới cặp nhiễm sắc thể giới tính là XY và ở nữ giới cặp nhiễm sắc thể giới tính là XX.

4.6.1. Cấu trúc vi thể của nhiễm sắc thể

Hình dạng vi thể của nhiễm sắc thể là hình dạng được quan sát ở kính hiển vi quang học.



Hình 1.20. Vị trí tâm của nhiễm sắc thể kỳ giữa (A) và sơ đồ nhiễm sắc thể kỳ giữa của người (B)

Ở gian kỳ: trong nhân cho thấy các hạt bắt màu phẩm nhuộm nhân hình lấm tấm gọi là hạt nhiễm sắc, kích thước của các hạt lớn hơn gọi là khối nhiễm sắc. Quan sát thấy các sợi dài và mảnh gọi là sợi nhiễm sắc và chằng chịt như mạng lưới gọi là lưới nhiễm sắc.

Ở kỳ giữa: nhiễm sắc thể co ngắn nhất, rõ nhất sau khi nhuộm màu và quan sát được dưới kính hiển vi quang học. Mỗi nhiễm sắc thể (dạng kép) gồm hai chromatid được liên kết với nhau ở phần eo sơ cấp - phân tâm (centromere).

Phân tâm chia nhiễm sắc thể thành hai nhánh: nhánh ngắn (ký hiệu là p) và nhánh dài (ký hiệu là q).

Ở người, nhiễm sắc thể có các dạng sau: khi $p = q$ gọi là nhiễm sắc thể tâm giữa; khi $p < q$ gọi là nhiễm sắc thể tâm lệch; khi $p \approx 0$ (p rất ngắn không đáng kể) gọi là nhiễm sắc thể tâm đầu.

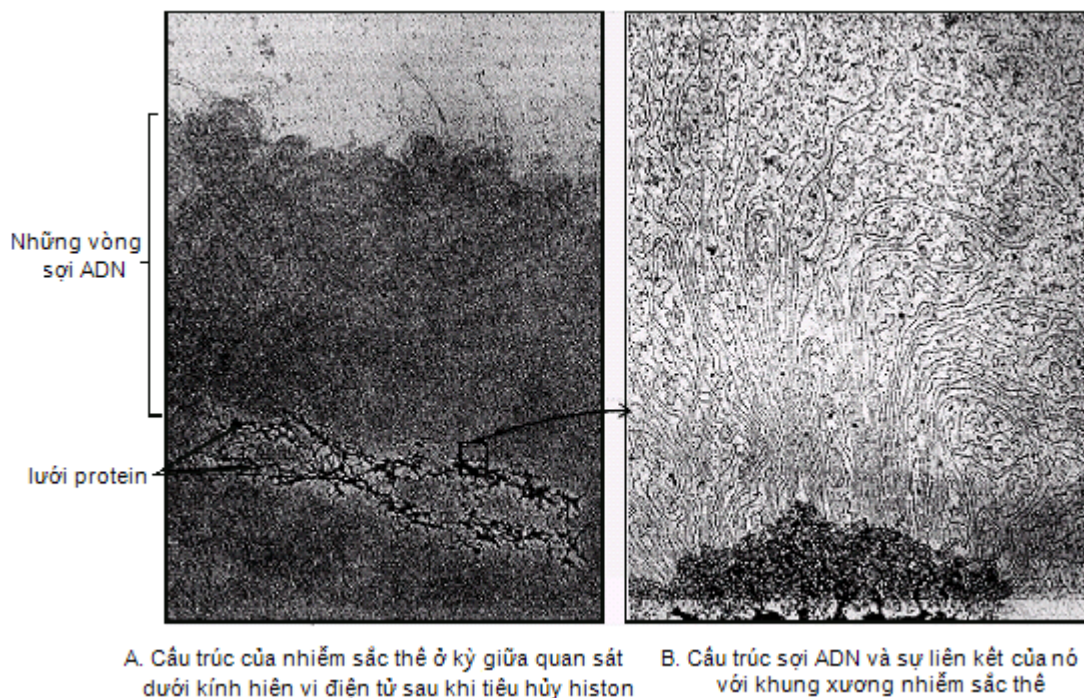
Phần cuối của mỗi chromatid mang tên đầu mút (telomere).

Đôi khi nối tiếp với nhánh ngắn (p) của nhiễm sắc thể tâm đầu có thêm các nóm hình cầu nhỏ gọi là vệ tinh (ký hiệu là S : Satellite).

Ngoài ra các nhiễm sắc thể dạng kép còn có một bộ phận gọi là tâm động (kinetochore), một cấu trúc ba lớp hình lồng máng ngắn ôm lấy phân tâm và từ hai bên tâm động xuất hiện sợi thoi vô sắc nối liền với sợi thoi vô sắc từ trung thể lúc phân bào.

4.6.2. Cấu trúc siêu vi thể của nhiễm sắc thể

Khi phân hủy histon và làm tiêu ADN bằng ADNase đã cho phép quan sát được khung xương của nhiễm sắc thể. Kiểm tra dưới kính hiển vi điện tử khung xương này có hình dạng giống như hình dạng của nhiễm sắc thể ở kỳ giữa. Paulson và Laemmli (1977) đã cho thấy rằng khung xương này được cấu tạo bởi hai protein khung. Các protein này khối lượng phân tử rất cao (180 KDa) được liên kết với nhau nhờ những ion Cu ở nồng độ rất thấp (10^{-8} M).



Hình 1.21. Nhiễm sắc thể dưới kính hiển vi điện tử

Kiểm tra nhiễm sắc thể dưới kính hiển vi điện tử sau khi tiêu hủy histon đã cho thấy cấu trúc chung của nhiễm sắc thể. Phân tử ADN liên tục trong mỗi chromatid từ $0,5 - 2,5 \cdot 10^8$ cặp base và tạo thành những vòng có chiều dài từ 10 đến 90 kb, các vòng này được tiếp xúc với protein khung xương của nhiễm sắc thể, ADN của những vòng này cùng với các histon tham gia cấu tạo thành nucleosom như những sợi chromatin ở gian kỳ.

4.6.2.1. Cấu trúc của sợi chromatin

Sợi chromatin khi làm duỗi tối đa và quan sát dưới kính hiển vi điện tử cho thấy sợi có dạng một chuỗi hạt, xếp đều đặn theo chiều dài của một sợi mảnh. Mỗi hạt là nucleosom có phần lõi gồm 8 phân tử histon, xung quanh được cuộn bởi ADN sợi kép; nối giữa các nucleosom là đoạn ngắn của ADN tự do. Đường kính của chuỗi hạt bằng khoảng 10nm, dạng cuộn xoắn cấp thấp nhất tạo thành một sợi có đường kính bằng 30 nm. Sợi chromatin lại xoắn tiếp ở cấp cao hơn, cấu trúc này cho thấy nhiễm sắc thể khi nhìn dưới kính hiển vi điện tử không gian ba chiều bên ngoài có các múi gọi là múi vi thể chromatin (microconvules) bám xung quanh khung xương của nhiễm sắc thể.

4.6.2.2. Thành phần hóa học của sợi chromatin

Sợi chromatin bao gồm phần lớn là ADN, các protein histon chiếm một số lượng lớn và liên kết thường xuyên với ADN. Các protein HMG (High Mobility Group) cũng chiếm đa số nhưng không liên kết thường xuyên với ADN. Một số loại protein chiếm phần thiểu số và chức năng cũng chưa được biết rõ, đó là các protein enzym, protein cấu trúc, protein điều chỉnh và protein tương tác với protein.

Các histon là những protein có khối lượng tương đối nhỏ (11 - 28 KDa) với một tỷ lệ rất lớn acid amin tích điện dương (Lyzin và Arginin), được tập trung nhiều nhất ở trong nhân và có tính chất kiềm ($\text{pH} > 10$). Năm loại histon đã được tìm thấy ở tất cả Eukaryota được chia thành hai nhóm chính: các histon nucleosom và histon H1.

Các histon nucleosom là những protein nhỏ (từ 102 đến 135 acid amin) gồm 4 loại histon được gọi là H2A, H2B, H3 và H4, các histon này có tính bảo thủ, trong đó H3 và H4 có tính bảo thủ hơn.

4.6.2.3. Nucleosom

Mỗi nucleosom bao gồm tâm histon có cấu trúc hình đĩa dày hai mặt lõm, đường kính 11nm bao gồm 8 phân tử histon: 2H2A, 2H2B, 2H3 và 2H4. Bên ngoài được cuốn bởi một đoạn ADN dài 146 cặp nucleotid. Mỗi tương tác giữa ADN và histon chủ yếu được thực hiện bởi H3 và H4. Giữa các nucleosom được cách nhau bởi một đoạn ADN, mà chiều dài có thể thay đổi từ 0 đến 80 cặp nucleotid. Trung bình tất cả các nucleosom được lặp lại vào khoảng 200 cặp. Như vậy một gen của Eukaryota khoảng 10000 cặp nucleotid sẽ liên kết với 50 nucleosom và mỗi tế bào người có 6×10^9 cặp nucleotid và chứa khoảng 3×10^7 nucleosom.

Histon H1 là protein lớn hơn (nó chứa khoảng 220 acid amin) và có tính bảo thủ ít hơn so với histon nucleosom. Histon H1 không tham gia cấu tạo nucleosom, nó dính ở bên ngoài nucleosom bằng cách liên kết hai nucleosom liền nhau, tham gia vào việc kết đặc sợi chromatin.

Ở Eukaryota, phức hợp protein được hình thành bởi hai nhóm: các histon và protein không histon cùng với ADN của tế bào Eukaryota được gọi là chromatin.

Histon H1⁰ là một protein duy nhất tìm thấy trong tế bào khi tế bào nghỉ, không phân bào. Nó thể hiện tính chất quan trọng là khi không có nó thì tế bào phân chia. Khi tế bào ngừng phân chia tự nhiên hoặc do tác nhân làm ngừng phân bào thì H1⁰ xuất hiện đồng thời giảm số lượng histon H1.

4.6.2.4. Một số protein chiếm số lượng lớn

Trong số những protein này, protein HMG được đặc biệt quan tâm, chúng có ở tất cả các cơ quan và ở tất cả Eukaryota. Các loại protein chiếm một số lượng lớn khoảng 106 bản sao trong nhân. Có 4 loại chính: HMG1, HMG2, HMG14 và HMG17. Gen protein HMG14 và 17 đã được clon hóa ở người, mỗi gen này có từ 20 đến 50 bản sao trong bộ gen và các gen này cũng không có intron như gen của histon. Tuy nhiên vị trí gen trên nhiễm sắc thể không được xác định rõ. HMG1 và HMG2 có khối lượng phân tử nặng hơn (28000 - 30000 Da), sự có mặt của chúng và tỷ lệ tùy thuộc vào trạng thái của tế bào, trong gian kỳ các protein này chủ yếu ở trong tế bào chất, chúng di chuyển vào trong nhân ở pha S của chu kỳ tế bào, nó đóng vai trò trong sự nhân đôi và phiên mã. HMG14 và HMG17 có khối lượng phân tử nhẹ hơn (12000 - 14000 Da) nó luôn luôn ở trong nhân, có vai trò liên kết các nucleosom. Mỗi nucleosom có hai vị trí bám cho các protein HMG.

4.6.2.5. Các loại protein chiếm số lượng ít và chưa được biết rõ

Bên cạnh các loại protein chiếm đa số (histon, HMG), chromatin chứa hàng trăm protein số lượng ít. Trong số đó có protein là enzym, protein liên kết với ADN, đóng vai trò trong sự biểu hiện của gen và những protein hoạt động trên protein khác. Các protein này chiếm tỷ lệ rất ít (vài bản sao trong mỗi tế bào).

4.6.2.6. Sự hình thành sợi chromatin

Sợi chromatin hình thành trong pha S của sự phân bào. Phần lớn histon được tổng hợp trong pha S từ tế bào chất đi ngay vào nhân để cùng với ADN mới tạo nên sợi chromatin. Khi khung xương nhiễm

sắc thể hình thành, sợi chromatin xoắn lại theo nhiều cấp (và luôn luôn chỉ xoắn với riêng mình) để cuối cùng tạo nên những hình múi xoắn (múi vi thể chromatin) quanh lõi khung protein.

4.6.2.7. *Dị nhiễm sắc và nhiễm sắc thực*

Dị nhiễm sắc (Heterochromatin) chiếm 80% ADN của nhân. Nó là những đoạn nhiễm sắc thể vẫn còn kết đặc sau khi phân bào, do vậy đoạn ADN không hoạt động, không phiên mã, nó chứa rất ít ARN và rất giàu histon H1.

Ở người dị nhiễm sắc cấu trúc (Heterochromatin constitutive) được khu trú ở phần tâm của mỗi nhiễm sắc thể. Phần lớn những vùng dị nhiễm sắc cấu trúc chứa những đoạn ADN lặp lại tương đối đơn giản (ADN satellite) và những đoạn ADN lặp lại này không phiên mã.

Dị nhiễm sắc ngẫu nhiên (Heterochromatin facultative) đó là những vùng khác của ADN kết đặc ngẫu nhiên trong gian kỳ. Những đoạn ADN này không có những đoạn ADN lặp lại đơn giản và cũng không phiên mã. Số lượng những đoạn dị nhiễm sắc ngẫu nhiên thay đổi rất nhiều tùy thuộc vào từng loại tế bào.

Nhiễm sắc thực (Euchromatin) được hình thành do đoạn ADN không lặp lại, là nơi xảy ra sự phiên mã mRNA và tARN (có hoạt động di truyền).

Mỗi một nhiễm sắc thể được cấu tạo bởi một phân tử ADN. Thông tin di truyền được bảo quản trong các nhiễm sắc thể của một cơ thể tạo thành bộ gen. Bộ gen của vi khuẩn E.coli chứa $4,7 \times 10^6$ cặp nucleotid trong một phân tử ADN (1 nhiễm sắc thể). Trái lại bộ gen của người chứa khoảng 3×10^9 cặp nucleotid trong 24 nhiễm sắc thể (22 nhiễm sắc thể thường và 2 nhiễm sắc thể giới tính khác nhau) và được cấu tạo nên 24 loại phân tử ADN.

Trong cơ thể lưỡng bội (2n) có hai bản sao của mỗi loại nhiễm sắc thể, một bản sao được di truyền từ người mẹ và một bản sao được di truyền từ người bố. Một tế bào người chứa tổng số 46 NST và khoảng 6×10^9 cặp nucleotid.

4.7. Hạch nhân

Quan sát dưới KHV quang học, hạch nhân có kích thước lớn và có dạng hình cầu, đó là một cấu trúc rõ nhất của nhân tế bào, không có trong lúc phân bào. Dưới kính hiển vi điện tử, khác với những bào quan trong tế bào chất, hạch nhân không được giới hạn bởi màng. Kích thước thay đổi rất nhiều tùy thuộc vào từng loại tế bào và tùy thuộc vào hoạt động của tế bào. Hình ảnh điển hình của hạch nhân dưới KHV điện tử có thể quan sát được ba vùng riêng biệt.

- Vùng sợi ít kết đặc, nó chứa ADN không hoạt động phiên mã.
- Vùng sợi kết đặc, nó chứa những phân tử ARN được hình thành trong quá trình phiên mã.
- Vùng hạt bao gồm những phân tử từ ribosom tiền thân đến ribosom trưởng thành.

Hình dáng bên ngoài của hạch nhân thay đổi đáng kể trong chu kỳ tế bào. Khi tế bào chuẩn bị phân bào thì kích thước của hạch nhân bắt đầu giảm dần, rồi biến mất khi nhiễm sắc thể ở vào kỳ giữa và sự tổng hợp ARN bị dừng lại. Khi sự tổng hợp ARN ribosom lại bắt đầu ở cuối quá trình phân bào (ở giai đoạn kỳ cuối) hạch nhân lại xuất hiện rất nhỏ khu trú trên các nhiễm sắc thể tương ứng với những gen ARN ribosom.

Ở người, các gen của ARN ribosom được định vị ở gần đầu mút của 5 NST khác nhau bao gồm NST số 13, 14, 15, 21 và 22. (có nghĩa là trên 10 NST của một tế bào lưỡng bội) tương ứng với 10 hạch nhân nhỏ được hình thành. Sau khi phân bào kích thước của chúng tăng lên và hợp lại để hình thành chỉ

có một hạch nhân lớn điển hình ở gian kỳ gọi là vùng tổ chức hạch nhân (NOR – Nuclear Organization Region) chúng chuyên chứa các gen tổng hợp nên rARN cho ribosom (ở người còn có một gen 5S tổng hợp rARN 5S nằm ở phần cuối nhánh dài nhiễm sắc thể số một, không tập trung tại hạch nhân) và cũng tại hạch nhân các protein từ tế bào chất đi vào gặp các rARN mới tạo, ghép lại với nhau để tạo nên các phân đơn vị nhỏ và lớn của ribosom. Các đơn vị ribosom này đi qua lỗ màng nhân để ra tế bào chất.

5. CHỨC NĂNG CHUNG CỦA NHÂN TẾ BÀO

Nhân tế bào chứa đựng vật liệu thông tin di truyền quyết định tính di truyền của tế bào và cơ thể:

- Cần thiết đối với sự sống của tế bào.
- Mang toàn bộ thông tin di truyền dưới dạng ADN (trừ thông tin trong ADN ty thể).
- Bảo tồn thông tin này nhờ khả năng nhân đôi ADN.
- Phụ trách tổng hợp mARN, tARN và rARN, chuyển chúng ra tế bào chất và tại đó thực hiện quá trình sinh tổng hợp protein.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày cấu trúc và chức năng của màng nhân.
2. Mô tả cấu trúc của lỗ màng nhân.
3. Trình bày cấu trúc vi thể của nhiễm sắc thể.
4. Trình bày cấu trúc siêu vi thể của nhiễm sắc thể.
5. Trình bày cấu trúc và chức năng của hạch nhân.
6. Trình bày chức năng chung của nhân tế bào.

Bài 4

SỰ VẬN CHUYỂN VẬT CHẤT QUA MÀNG TẾ BÀO

MỤC TIÊU

1. Trình bày được đặc điểm, điều kiện và nêu ví dụ về các hiện tượng vận chuyển thụ động, vận chuyển có trung gian và vận chuyển chủ động.
2. Mô tả được các hiện tượng: ẩm bào, nội thực bào, thực bào và ngoại tiết bào.

1. VẬN CHUYỂN THẨM

Bao gồm vận chuyển thụ động, vận chuyển có trung gian và vận chuyển chủ động.

1.1. Vận chuyển thụ động

Còn gọi là khuếch tán đơn thuần. Một số vật chất có phân tử nhỏ hòa tan trong nước, hòa vào lớp lipid kép của màng, đi qua nó rồi hòa với dung dịch nước ở phía bên kia màng. Quá trình này có rất ít sự

đặc hiệu. Ví dụ: ethanol, urê, glycerol, O_2 và CO_2 ...

1.1.1. Đặc điểm của vận chuyển thụ động

Chất vận chuyển không bị biến đổi hóa học.

Chất vận chuyển không kết hợp với một chất khác.

Vận chuyển không cần năng lượng.

Phụ thuộc vào gradient nồng độ hay điện thế (bên cao chuyển sang bên thấp).

Vận chuyển theo hai chiều, cân bằng giữa trong và ngoài tế bào.

1.1.2. Điều kiện ảnh hưởng đến sự khuếch tán

- Độ lớn của chất vận chuyển: chất càng lớn càng khó vận chuyển.

Ví dụ: O_2 (32 dalton); CO_2 (40 dalton), ethanol (46 dalton) và urê (60 dalton) qua màng nhanh, glycerol (92 dalton) qua màng chậm và glucose (180 dalton) rất khó qua màng.

- Độ hòa tan của chất trong lipid (càng dễ hòa tan càng dễ qua). Ví dụ: alcol, aldehyd, aceton, glycerol, các thuốc gây mê ...

- Gradient nồng độ:

+ Môi trường nhược trương: nồng độ chất hòa tan trong môi trường thấp hơn trong tế bào: tế bào động vật trong đó sẽ bị trương bào rồi tan bào.

+ Môi trường ưu trương: nồng độ chất hòa tan trong môi trường cao hơn trong tế bào: tế bào động vật trong đó sẽ bị teo bào, nếu là thực vật sẽ bị co nguyên sinh.

+ Môi trường đẳng trương: nồng độ chất hòa tan ở hai phía của màng bằng nhau, môi trường này còn gọi là môi trường sinh lý thích hợp với sự sống của tế bào. Nồng độ chất đối với mỗi loại tế bào động vật và thực vật có khác nhau.

- Phụ thuộc vào tính ion hóa của phân tử: ion hóa trị 1 dễ qua hơn ion hóa trị 2, ion bị bao thêm H_2O trở nên to và khó qua.

- Nhiệt độ tăng vừa phải thì kích thích sự thấm qua màng (khi tăng $100^\circ C$ thì tính thấm tăng chừng 1,4 lần).

- Nhu cầu hoạt động cũng làm tăng tính thấm: khi cơ hoạt động thì glucose và acid amin đi vào, khi cơ duỗi thì không.

- Phụ thuộc vào tác động tương hỗ của các chất: Ca^{2+} liên kết với nước thì giảm thấm. Glycerin khi có thuốc mê thì tăng thấm.

1.2. Vận chuyển có trung gian

Loại vận chuyển này vẫn gọi là vận chuyển thụ động nhưng có nhờ một protein xuyên màng trợ giúp cho đi qua. Nói một cách chặt chẽ thì loại này đã có tính chất chủ động một phần, có thể coi vận chuyển trung gian là loại vận chuyển chuyển tiếp giữa thụ động và chủ động.

1.2.1. Đặc điểm

- Phải có một protein màng tiếp nhận và làm vận tải viên.
- Không cần năng lượng của tế bào.
- Cũng theo gradient nồng độ.

- Sự vận chuyển theo hai chiều (thuận nghịch).

1.2.2. Ví dụ

- Vận chuyển glucose qua màng hồng cầu:

Vận tải viên là một protein xuyên màng gọi là glucose permease (chiếm 2% tổng protein màng hồng cầu). D – glucose (vì các đường đơn của sinh vật đều là quay phải “D” trừ một vài ngoại lệ) liên kết tạm thời với permease. Permease biến dạng và đẩy glucose vào hồng cầu. L – glucose (L: quay trái) không vào được. Năng lượng dùng cho vận chuyển không phải là của tế bào mà là từ gradient hóa học của glucose. Sự vận chuyển glucose là hai chiều nhưng vì khi glucose vào đến tế bào chất được phosphoryl hóa để chuyển ngay thành glucose 6 phosphat nên không ra được. Một số ít phân tử glucose còn lại tạo nên một môi trường nội bào nhược trương về glucose để hút thêm glucose vào tiếp. Permease còn đưa cả một số đường đơn quay phải “D” khác không phải là glucose, tần suất có thấp hơn so với tần suất đưa glucose, vì thế permease mang cái tên chung là: D – hexose permease.

- Vận chuyển một số anion qua màng:

Các ion Cl^- và HCO_3^- cũng vào màng hồng cầu nhờ vận tải viên protein tên là band₃. Band₃ là một protein xuyên màng nhưng đó là một protein màng qua lại màng nhiều lần. Nó được cấu tạo bởi một chuỗi polypeptid có chiều dài khoảng 930 acid amin. Mỗi hồng cầu chứa khoảng 106 chuỗi polypeptid của band₃.

Chức năng chính của hồng cầu là vận chuyển O_2 từ phổi đến các mô và CO_2 từ mô đến phổi. Band₃ can thiệp trong sự trao đổi này. Band₃ xúc tác việc trao đổi một đổi 1 anion qua màng, có nghĩa là đưa 1 HCO_3^- vào thì đưa 1 Cl^- ra và ngược lại. Band₃ không cho phép các anion vượt qua màng chỉ một chiều.

1.3. Vận chuyển chủ động qua màng

Loại vận chuyển này thực hiện hoàn toàn theo yêu cầu của tế bào.

1.3.1. Đặc điểm

- Nhất thiết phải có trung gian protein vận tải, còn gọi là vận tải viên hoặc cái bơm của tế bào.
- Cần tiêu tốn năng lượng.
- Có thể đi ngược gradient nồng độ hay điện thế.
- Vận chuyển chỉ theo một chiều.

1.3.2. Ví dụ

- Bơm $\text{Na}^+ \text{K}^+$.

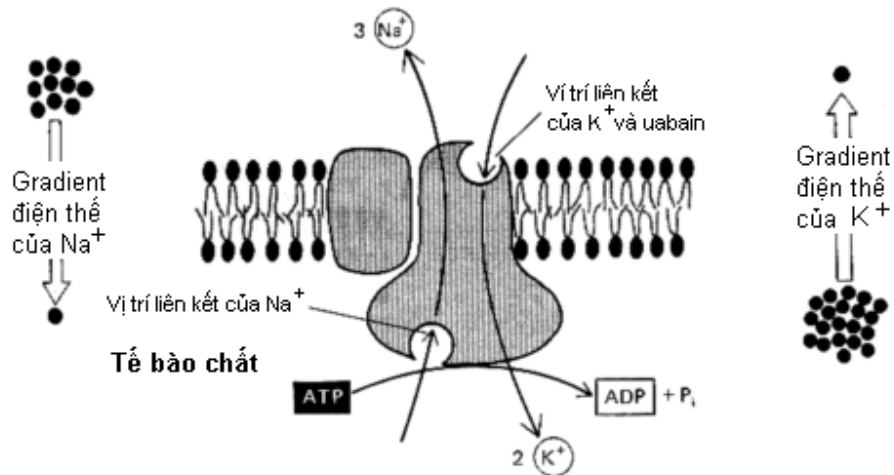
Vận tải viên là $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPase}$.

Nồng độ của K^+ ở bên trong cao hơn 10 - 20 lần so với bên ngoài tế bào, trong khi đó Na^+ thì ngược lại. Sự khác nhau về nồng độ này được duy trì bởi cái bơm $\text{Na}^+ \text{K}^+$.

Bơm $\text{Na}^+ \text{K}^+$ được tìm thấy trong màng sinh chất ở hầu hết các tế bào động vật. Bơm này có tác dụng đẩy Na^+ ra ngoài đồng thời đẩy K^+ vào trong tế bào.

Phân tử $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{ATPase}$ được cấu tạo bởi một phân đơn vị lớn xúc tác vận chuyển qua màng (chiều dài khoảng 1000 acid amin) nó đi qua màng kép nhiều lần và một phân đơn vị nhỏ hơn là glucoprotein. Phân đơn vị lớn có hai vị trí cho K^+ và một cho uabain ở mặt ngoài màng và ba vị trí cho Na^+ và một cho ATP ở mặt trong; thủy phân một ATP thì đẩy ra được 3Na^+ và bơm vào được 2K^+ . (Na^+ đi vào tế

bào bằng con đường khác, con đường permease của glucose).



Hình 1.22. Sự vận chuyển Na^+K^+ qua màng tế bào
Bơm $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$

Quá trình vận chuyển có thể chia làm 3 bước:

Bước 1: 3 Na^+ vào vị trí ở phía trong màng của vận tải viên.

Bước 2: 3 Na^+ được đưa ra khỏi tế bào và 2 K^+ vào vị trí của mình ở phía ngoài màng của vận tải viên.

Bước 3: 2 K^+ được đưa vào tế bào, vận tải viên trở lại trạng thái ban đầu.

- Bơm Ca^{2+} :

Cái bơm này là $\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$: nó là protein màng lưới nội sinh chất nhẵn của tế bào cơ và trên màng tế bào của hồng cầu. ở hồng cầu nó đẩy Ca^{2+} ra khỏi hồng cầu, ở tế bào cơ nó bơm Ca^{2+} vào lòng của lưới nội sinh chất nhẵn thì cơ duỗi, khi bơm trả lại Ca^{2+} cho tế bào chất thì cơ co. $\text{Ca}^{2+}\text{ATPase}$ cần Mg^{2+} để hoạt động.

- Bơm proton (H^+):

Bơm proton H^+ là hệ thống vận chuyển proton phụ thuộc ATP có ở màng tiêu thể phụ trách việc duy trì độ pH acid của tiêu thể bằng cách bơm H^+ vào tiêu thể. Gặp ở màng thylakoid của lục lạp, phụ trách tạo một gradient điện thế giữa hai phía của màng thylakoid do sự chênh lệch lớn về ion H^+ .

2. ẨM THỰC BÀO

Ẩm thực bào là hình thức vận chuyển có sử dụng đến túi làm bằng màng sinh chất.

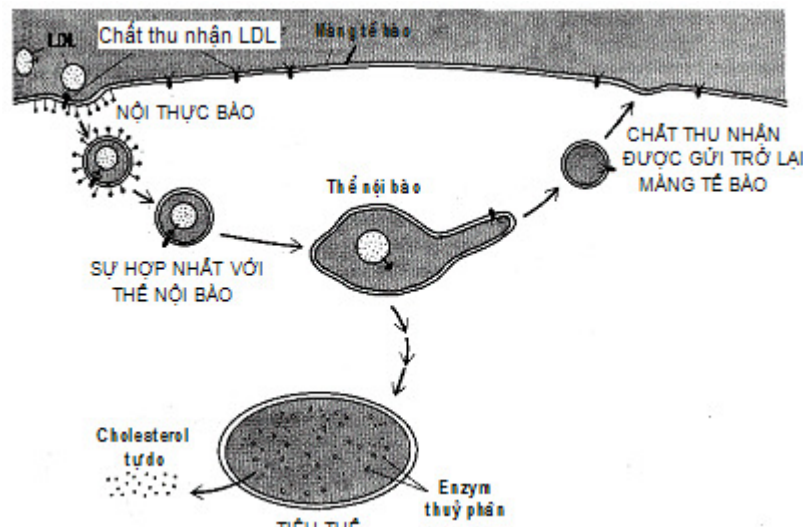
Có 4 hình thức: ẩm bào (pinocytosis), nội thực bào (endocytosis), thực bào (phagocytosis) và ngoại tiết bào (exocytosis).

2.1. Ẩm bào: là sự tiếp thu không đặc hiệu các chất hòa tan trong dịch ngoại bào. Màng tế bào lõm vào thành túi bao lấy dịch, chất hòa tan trong túi có nồng độ không khác gì nồng độ của chúng trong dịch ngoại bào. Sau đó túi tách khỏi màng đi vào tế bào chất.

2.2. Nội thực bào: giống ẩm bào ở chỗ màng cũng bao lấy môi tạo thành túi để đưa môi vào tế bào chất. Khác ẩm bào ở chỗ môi là đặc hiệu, phải có ổ tiếp nhận (receptor) nhận diện môi.

Môi được ổ tiếp nhận nhận diện và tiếp nhận dưới dạng liên kết tạm thời gọi là phức hợp môi - ổ

tiếp nhận. Tại nơi có phức hợp mồi - ổ tiếp nhận màng tế bào lõm xuống tạo thành túi bao lấy mồi sau đó túi tách khỏi màng và đi vào tế bào chất để đến với bào quan tiếp nhận (tiêu thể, hoặc lưới nội sinh chất không hạt ...)



Hình 1.23. Nội thực bào LDL

Màng của một tế bào động vật có tới vài ba chục ngàn ổ tiếp nhận. Chúng có từng loại khác nhau, có khả năng tiếp nhận rất đặc hiệu và không giống ở các loại tế bào khác nhau. Ổ tiếp nhận có thành phần chính là protein, có khi là một phức hợp protein. Protein thường được glycosyl hóa bởi các nhánh carbohydrat, các nhánh này góp phần vào sự hình thành cấu trúc bậc 3 của protein, làm bền protein và có thể góp phần vào sự nhận diện chất gắn đặc hiệu. Ổ tiếp nhận có thể bị hao hụt theo sự hao hụt của màng mỗi lần màng lõm thành túi nội thực bào để đi vào tế bào chất.

Nội thực bào có một loại đặc biệt để tiếp nhận những chất đặc biệt và giao theo địa chỉ chính xác. Túi của loại này gọi là túi áo (còn gọi là acantosom). Có thể lấy ví dụ chất gắn là cholesterol este hóa và địa chỉ giao nhận là tiêu thể.

Phần lớn cholesterol tế bào hấp thu được dùng để tạo màng mới. Nếu như sự hấp thu bị ngừng, cholesterol tích lũy trong máu và có thể góp phần hình thành những mảng xơ vữa động mạch trong thành của mạch máu. Bộ phận lớn nhất của cholesterol được vận chuyển trong máu liên kết với protein tạo thành phức hợp dưới cái tên lipoprotein tỷ trọng thấp hoặc LDL (Low Density Lipoprotein). Mỗi một phân tử LDL có hình cầu (đường kính 22nm) chứa một nhân trung tâm là cholesterol este hóa, bao bên ngoài là một lớp phospholipid và ngoài cùng là phân tử protein Apo - B.

Tại những phần nhất định của màng nơi tập trung những ổ tiếp nhận đặc hiệu một loại chất gắn nhất định (ví dụ phức hợp LDL), màng tế bào lõm xuống thành lõm màng, phía trong lõm màng hay phía tế bào chất một loại protein tên là clathrin tập trung đến và liên kết (polyme hóa) lại thành một mạng lưới để khi túi nội thực bào đã hoàn thành thì lưới bao lấy túi. Lõm có bao clathrin gọi là lõm áo, túi có bao clathrin gọi là túi áo. Cũng có thể có một cơ chế khác là chất gắn gắn với ổ tiếp nhận đặc hiệu của nó trên màng thành một phức hợp rồi di chuyển về lõm áo đã hình thành sẵn. Mối quan hệ giữa ổ tiếp nhận và lõm áo là phức tạp và ổ tiếp nhận có tương tác trực tiếp gì với clathrin hay không thì còn chưa rõ.

Các ổ tiếp nhận thu nhận LDL hình thành nên túi áo, túi áo vào tế bào chất. Phần vỏ lưới clathrin giáng cấp, các phân tử clathrin phân tán trong tế bào chất. Túi nội thực bào chuyển thành phần bên trong

đến thể nội bào (endosome). Phần màng tế bào có ổ tiếp nhận được gửi trở lại màng sinh chất, trong khi đó LDL được thủy phân ở tiêu thể. Trong tiêu thể, các chất este hóa của cholesterol trong các phân tử LDL được thủy phân giải phóng cholesterol tự do được sử dụng cho tế bào để tổng hợp màng mới. Nếu như số lượng cholesterol tự do quá nhiều được tích lũy trong tế bào sẽ đồng thời gây ra ngừng tổng hợp cholesterol đặc hiệu cho tế bào và không tiếp nhận LDL.

2.3. Thực bào

Thực bào là sự đưa các phân tử lớn như vi khuẩn hoặc một phần của tế bào bị vỡ, hoặc trong thí nghiệm cả một mảnh chất dẻo nhỏ. Hình thức này xảy ra ở đại thực bào (một loại bạch cầu) hoặc các động vật nguyên sinh. Khi vật mồi bám vào mặt màng, màng tế bào tỏa ra bao lấy vật mồi. Màng tế bào còn huy động thêm các sợi vi thể chứa actin nằm ngay dưới mặt màng để gia cố cho túi thực bào.

2.4. Ngoại tiết bào

Ngoại tiết bào là hiện tượng các túi Bài tiết chứa chất thải hoặc chất tiết từ tế bào chất đến áp sát hòa màng túi vào màng tế bào, mở túi và thải các chất ấy ra khỏi tế bào.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày hiện tượng vận chuyển thụ động qua màng tế bào.
2. Trình bày hiện tượng vận chuyển thụ động có trung gian qua màng tế bào. Cho ví dụ.
3. Trình bày hiện tượng vận chuyển chủ động qua màng tế bào. Cho ví dụ.
4. Mô tả các hiện tượng ẩm bào, nội thực bào và ngoại tiết bào.

Bài 5 PHÂN CHIA TẾ BÀO VÀ SỰ HÌNH THÀNH GIAO TỬ Ở NGƯỜI

MỤC TIÊU

1. Trình bày được khái niệm chu kỳ tế bào và đặc điểm các giai đoạn của chu kỳ tế bào.
2. Trình bày được đặc điểm các giai đoạn của quá trình phân bào giảm nhiễm.
3. Trình bày được sự hình thành tinh trùng và trứng ở người.
4. Trình bày được sự chết tế bào có chương trình.

1. PHÂN BÀO NGUYÊN NHIỄM (HAY NGUYÊN PHÂN)

Phân bào là một quá trình liên tục nhưng để tiện việc nghiên cứu người ta chia nó ra thành từng kỳ. Suốt cả thời gian của một lần phân bào nguyên nhiễm gọi là một chu kỳ tế bào. Chu kỳ tế bào gồm gian kỳ và các kỳ phân bào chính thức được ký hiệu bằng M (Mitosis).

Phân bào nguyên nhiễm xảy ra ở các tế bào sinh dưỡng và các tế bào thuộc giai đoạn đầu của quá trình phát sinh giao tử. Đặc điểm đặc trưng nhất của loại phân bào này là từ một tế bào $2n$ nhiễm sắc thể đến khi phân bào xong được hai tế bào cũng có $2n$ nhiễm sắc thể.

1.1. Gian kỳ

Gian kỳ là kỳ xen giữa hai lần phân bào, được coi như là kỳ chuẩn bị cơ sở vật chất trước khi phân bào. Gian kỳ được chia ra làm 3 giai đoạn: G_1 , S, G_2 .

Ở các loại tế bào khác nhau, chu kỳ tế bào có thời gian dài ngắn khác nhau, tính toàn bộ cũng như tính từng giai đoạn đều có sự khác nhau. Nói chung các giai đoạn S và G_2 và cả giai đoạn M tiếp theo thì tương đối ổn định, riêng giai đoạn G_1 thì rất biến thiên.

1.1.1. Giai đoạn G_1 (Gap 1): ở động vật có vú thì G_1 kéo dài 2 - 3 giờ cho đến nhiều ngày. Khi phân chia nhanh thì G_1 ngắn, khi phân chia chậm thì G_1 dài.

Nếu như tế bào ngừng phân chia, chu kỳ bị ngắt quãng, tế bào bước vào giai đoạn G_0 . Một số loại tế bào như tế bào thần kinh ở giai đoạn này trong suốt đời sống của cá thể. Mặt khác, một số tế bào ở giai đoạn này với thời gian vô định cho đến khi có một sự kích thích mới trở thành giai đoạn G_1 , tế bào trở lại chu kỳ phân chia.

1.1.2. Giai đoạn S: ở động vật có vú thời gian của giai đoạn S kéo dài khoảng 7 giờ. Lúc này ADN được nhân đôi đồng thời với sự tổng hợp của histon và một số protein khác, sợi chromatin mới được thành lập để tạo thành một chromatid bên cạnh nhiễm sắc thể cũ nay trở thành một chromatid (phần khuôn).

Trong và sau khi ADN nhân đôi, có sự trao đổi đoạn giữa hai chromatid chị em.

Sự trao đổi đoạn giữa hai chromatid chị em trong phân bào nguyên nhiễm là trao đổi cho nhau giữa bên cũ và bên mới để cho không chromatid nào là già cũ hoặc non trẻ hoàn toàn cả.

1.1.3. Giai đoạn G_2 : kéo dài khoảng 3 - 4 giờ. Lúc này ADN tiếp tục sửa chữa các sai sót khi nhân đôi ADN.

1.2. Các kỳ của sự phân bào chính thức:

Ký hiệu là M, có 4 kỳ: kỳ đầu, kỳ giữa, kỳ sau và kỳ cuối.

1.2.1. Kỳ đầu (prophase)

Ở gian kỳ, các nhiễm sắc thể ở dạng sợi rất mảnh không nhìn rõ cấu trúc riêng biệt dưới kính hiển vi quang học. ở kỳ đầu, các nhiễm sắc thể bắt đầu xoắn lại, trở nên kết đặc hơn và bắt đầu nhìn thấy cấu trúc riêng biệt. Hạch nhân được nhìn thấy ở giai đoạn sớm của kỳ đầu nhưng biến mất ở giai đoạn sau.

Kỳ giữa sớm (prometaphase) chiếm thời gian ngắn. Trong kỳ này màng nhân biến mất và các sợi thoi vô sắc bắt đầu xuất hiện. Các nhiễm sắc thể gắn với các sợi thoi vô sắc ở tâm động.

Trong giai đoạn S, G_2 và kỳ đầu nguyên phân ở một số mô sinh dưỡng (soma) của nhiều loài, đặc biệt là thực vật đã quan sát thấy hiện tượng trao đổi chéo soma. Bình thường khi ADN tiến hành sự sửa chữa các sai sót, chromatid cũ làm khuôn, chromatid mới cắt bỏ phần tổng hợp bị sai và tổng hợp lại cho đúng dựa vào chromatid khuôn. Đôi khi để sửa chữa chromatid khuôn lại lấy từ một chromatid đồng

dạng của nhiễm sắc thể đồng dạng không phải là chị em. ở người, hiện tượng này cũng thấy ở mô u mắt ác tính của trẻ em (bệnh u võng mạc).

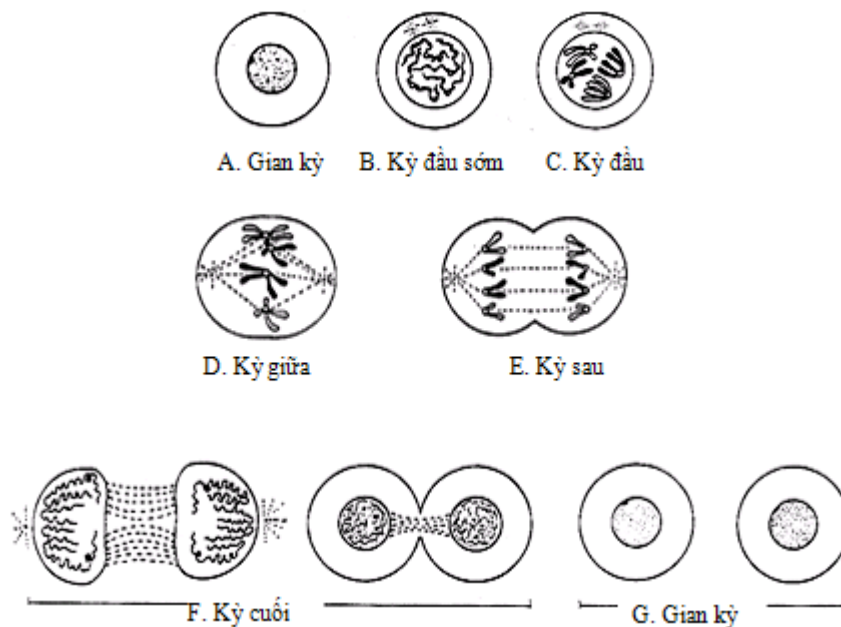
1.2.2. Kỳ giữa (metaphase)

Ở kỳ giữa thoi vô sắc đã hình thành, trung thể phân chia về hai cực đối diện và các nhiễm sắc thể sắp thành hàng trên mặt phẳng xích đạo - các nhiễm sắc thể ở trạng thái co ngắn tối đa.

1.2.3. Kỳ sau (anaphase)

Phần tâm phân chia theo chiều dọc và các chromatid tách ra trong kỳ này. Các chromatid chị em di chuyển về các cực đối diện.

Phần tâm phân chia theo chiều dọc và các chromatid tách ra trong kỳ này. Các chromatid chị em di chuyển về các cực đối diện.



Hình 1.24. Phân bào nguyên nhiễm

1.2.4. Kỳ cuối (telophase)

Các nhiễm sắc thể đã về đến các cực, duỗi xoắn, hạch nhân và màng nhân được hình thành. Tế bào chất thắt lại tạo nên hai tế bào.

Kết quả của quá trình phân chia nguyên nhiễm tạo ra hai tế bào con giống hệt nhau, mỗi tế bào con chứa đầy đủ bộ nhiễm sắc thể như trong tế bào ban đầu. Hai tế bào con bước vào gian kỳ và chu kỳ lại tiếp tục.

2. PHÂN BÀO GIẢM NHIỄM (HAY GIẢM PHÂN)

Phân bào giảm nhiễm gồm hai lần phân bào sau cùng của các tế bào sinh dục để tạo nên các giao tử.

Quá trình phân bào giảm nhiễm đã chuyển các tế bào từ trạng thái lưỡng bội ($2n$ nhiễm sắc thể) thành trạng thái đơn bội (n nhiễm sắc thể). Trạng thái lưỡng bội sẽ được khôi phục nhờ quá trình thụ tinh (tinh trùng kết hợp với trứng).

Quá trình phân bào giảm nhiễm gồm hai lần phân chia liên tiếp nhau, lần phân bào I và lần phân bào II. Trước khi bước vào sự phân bào chính thức của lần phân bào I, tế bào cũng phải trải qua một kỳ

chuẩn bị (gian kỳ). ở giai đoạn S, ADN cũng được nhân đôi và cũng chỉ nhân đôi một lần trong cả hai lần phân bào.

2.1. Lần phân bào I

2.1.1. Kỳ đầu I

Thời gian của chu kỳ này biến thiên nhưng bao giờ cũng rất dài và được phân chia làm 5 giai đoạn: giai đoạn sợi mảnh (leptoten), giai đoạn tiếp hợp (zygoten), giai đoạn sợi dày hay co ngắn (pachyten), giai đoạn thể kép (diploten) và giai đoạn hướng cực (diakinesis).

2.1.1.1. Giai đoạn sợi mảnh (leptoten): các nhiễm sắc thể đã bắt đầu co dần. Các nhiễm sắc thể đã hình thành cấu trúc như sợi chỉ và thấy được dưới kính hiển vi điện tử.

2.1.1.2. Giai đoạn tiếp hợp (zygoten): các nhiễm sắc thể tương đồng tiếp hợp với nhau thành từng cặp trên suốt chiều dài của nhiễm sắc thể và sự tiếp hợp thường bắt đầu từ đầu mút của nhiễm sắc thể tạo nên nhiễm sắc thể dạng lưỡng trị (bivalent).

Sự tiếp hợp của nhiễm sắc thể tương đồng là mở đầu cho sự trao đổi chéo (crossing - over).

Sự tiếp hợp được thực hiện tại những đoạn tương đồng của nhiễm sắc thể (nó được mang một cái tên là synapsis), tại nơi đó là điểm khởi đầu cho sự tái tổ hợp về sau.

Ở người có 23 lưỡng trị (22 lưỡng trị thường và một lưỡng trị giới tính). ở nữ giới lưỡng trị giới tính giống như lưỡng trị thường. ở nam giới lưỡng trị giới tính có dạng khác, ở các nhiễm sắc thể X và Y sự tiếp hợp chỉ xảy ra ở đầu mút của nhánh ngắn nhiễm sắc thể X và nhiễm sắc thể Y (vùng tương đồng này gọi là vùng giả autosom (pseudoautosome)).

Bình thường ở các lưỡng trị có các hình ảnh chéo nhau gọi là điểm bắt chéo, nơi đó các chromatid không chị em bắt chéo nhau để trao đổi đoạn nhưng ở lưỡng trị X - Y thì không có.

2.1.1.3. Giai đoạn sợi dày hay co ngắn (pachyten): khi sự tiếp hợp đã xong, các nhiễm sắc thể co ngắn lại, dày lên. Sự trao đổi của các chromatid sẽ xảy ra bằng cách các chromatid sẽ đứt ra, trao đổi và nối lại trên nhiễm sắc thể mới.

2.1.1.4. Giai đoạn thể kép (diploten): cuối giai đoạn co ngắn và đầu giai đoạn thể kép các chromatid dần dần tách ra để hình thành bộ tứ. ở giai đoạn này các chromatid còn dính nhau tại những điểm gọi là điểm bắt chéo (chiasmata). Các điểm bắt chéo chuyển dần đến các đầu mút của các nhiễm sắc thể. Khi chỉ còn dính nhau ở đầu mút của các nhiễm sắc thể thì kết thúc giai đoạn thể kép.

2.1.1.5. Giai đoạn hướng cực: lưỡng trị vẫn giữ nguyên dạng với các đầu mút chromatid dính nhau, phần tâm thì xa nhau. Hình thái này giữ nguyên cho đến hết kỳ giữa I.

2.1.2. Kỳ giữa I

Màng nhân, hạch nhân đã biến mất. Các lưỡng trị xếp trên mặt phẳng xích đạo của tế bào, hai phần tâm của mỗi lưỡng trị cùng dính vào một sợi thoi và nằm đối xứng hai bên mặt phẳng xích đạo. Mỗi nhiễm sắc thể ở vị trí ngẫu nhiên bên này hoặc bên kia của sợi thoi vô sắc.

2.1.3. Kỳ sau I

Các nhiễm sắc thể vẫn giữ nguyên dạng kép của từng cặp tương đồng phân ly nhau và đi về hai cực của tế bào.

2.1.4. Kỳ cuối I

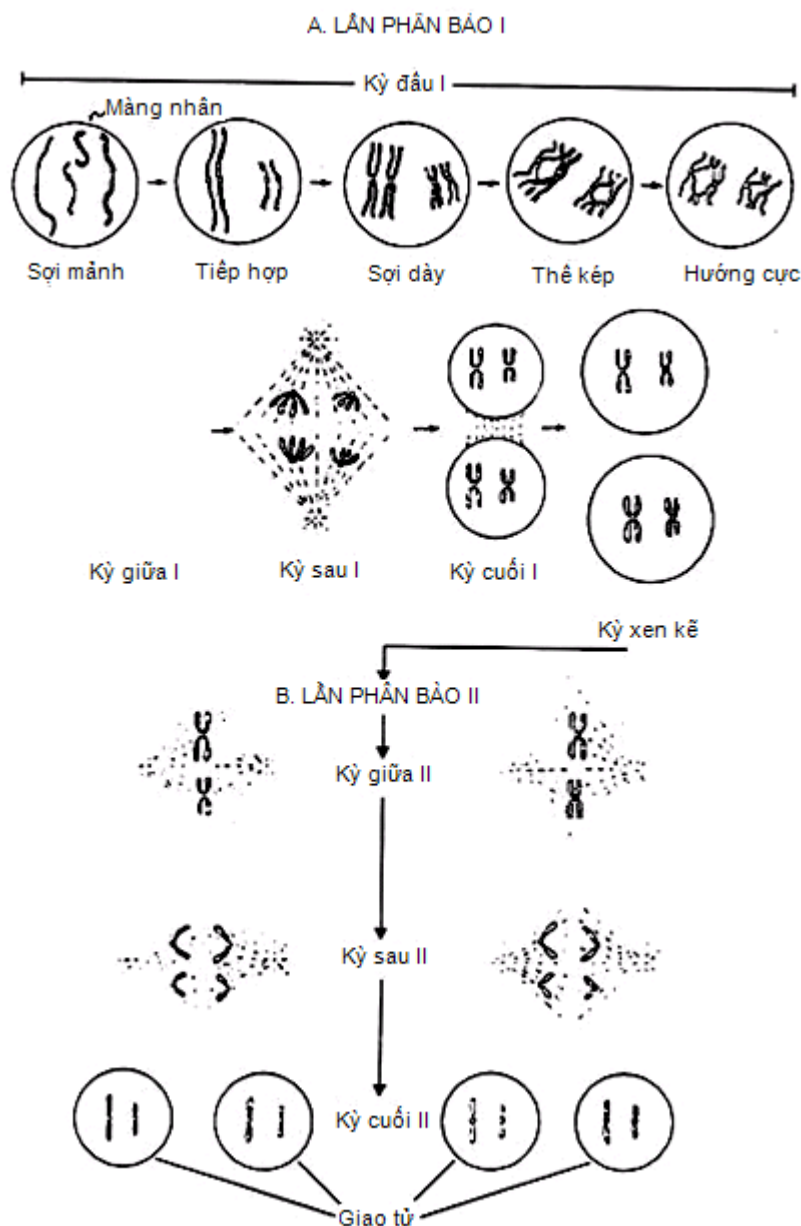
Ở mỗi tế bào, màng nhân hình thành bao lấy bộ nhiễm sắc thể đơn bội, tế bào chất thắt lại, kết quả

tạo ra hai tế bào chứa bộ nhiễm sắc thể giảm đi một nửa, mỗi nhiễm sắc thể gồm hai chromatid (dạng kép).

Điều đáng chú ý là khi tập trung về mặt phẳng xích đạo, các phân tâm của từng lưỡng bội sắp xếp ngẫu nhiên bên này hay bên kia của mặt phẳng mà mỗi phân tâm có một nguồn riêng: của bố hay của mẹ. Như vậy là ở mỗi bên có sự pha trộn không định trước của các phân tử dẫn đến sự pha trộn thông tin di truyền của thế hệ trước. Đây là sự tổ hợp lại cộng thêm vào sự tổ hợp lại của sự hoán vị gen do trao đổi chéo.

2.2. Lần phân bào II

2.2.1. Kỳ xen kẽ: Gọi là kỳ xen kẽ vậy thôi, sự thực thì lần phân bào II xảy ra ngay sau kỳ cuối I, không có sự nhân đôi ADN, như vậy là không có giai đoạn S. Hai tế bào mới sinh cùng bước vào kỳ giữa II khi thoi vô sắc xuất hiện.



Hình 1.25. Phân bào giảm nhiễm

2.2.2. Kỳ giữa II: các nhiễm sắc thể vẫn ở dạng kép tập trung về mặt phẳng xích đạo, phần tâm bám vào sợi thoi (mỗi nhiễm sắc thể bám vào một sợi).

2.2.3. Kỳ sau II: các chromatid được tách nhau ở phần tâm thành nhiễm sắc thể (dạng đơn) phân ly nhau về hai cực tế bào.

2.2.4. Kỳ cuối II: các nhiễm sắc thể đã về đến cực, màng nhân mới hình thành, tế bào chất chia đôi thành hai tế bào mới.

Tóm lại: từ một tế bào ban đầu ($2n$) trải qua hai lần phân bào để cuối cùng cho 4 tế bào đơn bội ($1n$).

3. SỰ HÌNH THÀNH GIAO TỬ Ở NGƯỜI

3.1. Sự phát sinh tinh trùng

Các tế bào sinh tinh trải qua nhiều lần phân bào nguyên nhiễm ở giai đoạn mà tế bào có tên là tinh nguyên bào. Hai lần phân bào sau cùng của quá trình tạo giao tử là giảm phân.

Từ khi nam giới đến tuổi dậy thì, một số tinh nguyên bào bước vào giảm phân và hiện tượng này xảy ra liên tục ở cá thể từ tuổi dậy thì cho đến khi chết.

Sau nhiều lần phân bào, tinh nguyên bào ngừng phân chia, tăng kích thước và được gọi là tinh bào I.

Tinh bào I giảm nhiễm I để tạo nên hai tinh bào II. Mỗi tinh bào II giảm nhiễm II để tạo ra 4 tinh tử đơn bội, các tinh tử này sẽ phát triển thành tinh trùng.

3.2. Sự phát sinh trứng

Ở người cũng như động vật có vú nói chung, sự phát sinh trứng khác với sự phát sinh tinh trùng.

Các tế bào sinh trứng phải trải qua nhiều lần phân bào nguyên nhiễm, ở giai đoạn này tế bào có tên là noãn nguyên bào. Hai lần phân bào sau cùng của quá trình tạo trứng (noãn cầu) là giảm phân.

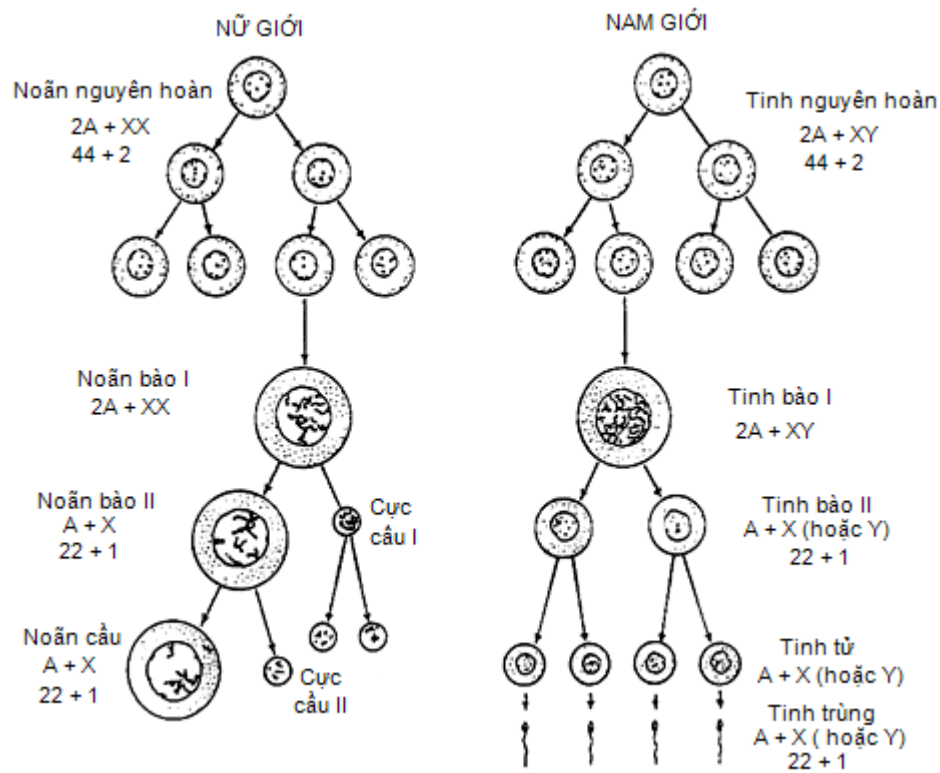
Sau nhiều lần phân bào, noãn nguyên bào ngừng phân chia, tăng kích thước để trở thành noãn bào I. Noãn bào I đã được hình thành từ giai đoạn phôi muộn (khoảng tháng thứ 5 từ sau hợp tử hình thành). Sau giai đoạn thể kép (diploten) của kỳ đầu I, tế bào bước vào giai đoạn mà nhiễm sắc thể có hình cái chổi lông và được gọi là giai đoạn thể lưới (dictyoten). Tế bào bị hãm ở giai đoạn này trong nhiều năm. Sau khi được sinh ra, phần lớn noãn bào bị thoái hóa.

Ở sau tuổi dậy thì, một số noãn bào bắt đầu phát triển, kết thúc lần phân bào giảm nhiễm I và bước vào kỳ xen kẽ và kỳ giữa II và lúc này chính là lúc "trứng" có thể rụng để sẵn sàng đón tinh trùng. Khi quá trình thụ tinh xảy ra (trứng thụ tinh bởi tinh trùng), thì quá trình giảm nhiễm kết thúc (noãn bào II cho noãn cầu và cực cầu II, cực cầu I cho 2 cực cầu II).

Ở người, mỗi tháng trứng rụng 1 lần, lần đầu tiên xung quanh tuổi 13 và lần cuối cùng xung quanh tuổi 50.

Kết quả sau hai lần phân bào được 4 tế bào đơn bội nhưng chỉ một là phát triển được thành noãn cầu thành thực (trứng) mang đầy đủ nguyên liệu tế bào chất cần dùng cho sự thụ tinh mà thôi. Ba tế bào kia (là cực cầu) thì hầu như không có tế bào chất. Như vậy là giữa nam và nữ, sự phân bào giảm nhiễm có những điểm khác nhau căn bản. Ở nam, sự phân chia để tạo tinh là liên tục kể từ khi bắt đầu tuổi dậy thì cho đến khi cá thể chết và tất cả tế bào sinh ra đều đi đến tinh trùng thuần thực và sự thuần thực là không đợi đến lúc thụ tinh.

Ở nữ, sự phân chia để tạo noãn bào vừa không nhiều bằng tạo tinh, vừa dừng lại từ trong phôi. Quá trình giảm phân thì bị gián đoạn ở cuối kỳ đầu I để lại tiếp tục hàng mười, mười lăm năm sau, và để kết thúc hoàn toàn thì phải có điều kiện là được thụ tinh.



Hình 1.26. Quá trình tạo giao tử ở người

Một điều khác nữa là noãn bào bị thoái hóa nhiều, chỉ có một số ít đi đến đích mà trong số ít ấy chỉ có một phần tư là hình thành trứng, một đặc điểm đặc trưng của động vật nuôi con non trong bụng mẹ.

4. SỰ CHẾT TẾ BÀO CÓ CHƯƠNG TRÌNH (APOPTOSIS)

4.1. Khái niệm

Sự chết tế bào bao gồm chết bệnh và chết tự nhiên. Trường hợp bệnh lý, những tế bào không được cung cấp máu có thể bị trương lên, màng tế bào bị nứt, rách và dẫn đến tế bào bị vỡ tung ra. Sự chết tế bào như vậy cuối cùng cũng sẽ đưa đến chết mô, đó là sự chết hoại. Tuy nhiên trong một số trường hợp khác, những tế bào không bị trương lên mà teo lại. Màng tế bào vẫn còn nhưng sần sùi và nhân thường kết đặc lại, tế bào ở dạng này gọi là sự chết tế bào có chương trình (apoptosis).

Sự chết tế bào có chương trình xảy ra một cách bình thường như là một phần trong chương trình hoạt động sống của tế bào.

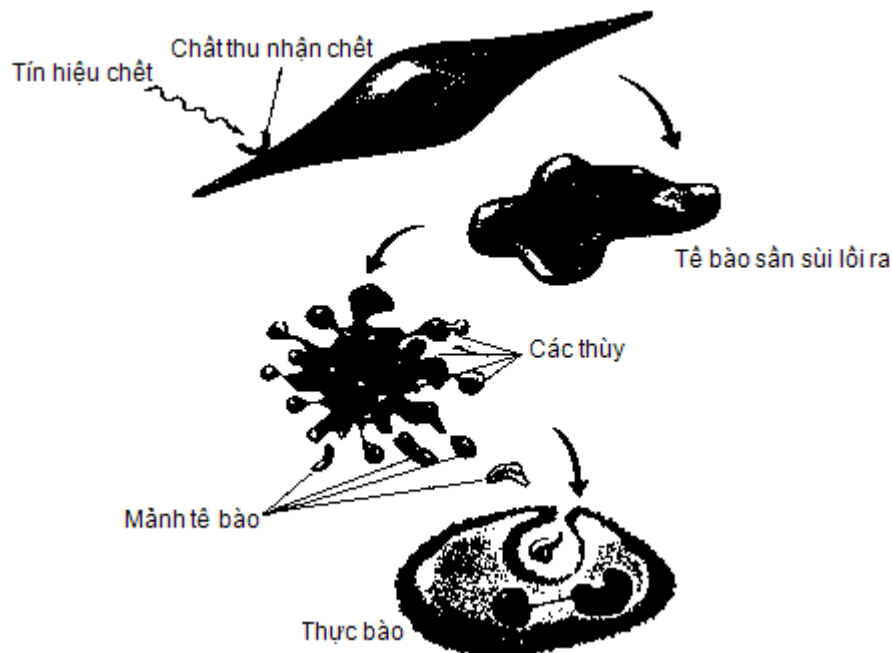
Trong cơ thể bình thường, hai quá trình trái ngược nhau - sự phân chia tế bào và sự chết tế bào - điều chỉnh số lượng tế bào của cơ thể. Phân chia tế bào làm tăng số lượng tế bào. Sự chết tế bào có chương trình làm giảm số lượng tế bào, đảm bảo duy trì hình thái bình thường của cơ thể, của cơ quan.

4.2. Sự biểu hiện của chết tế bào có chương trình

Tương tự như phân bào, sự chết tế bào có chương trình là một quá trình liên tục gồm hàng loạt các bước. Đầu tiên “chất thu nhận chết” trên màng tế bào nhận tín hiệu chết là các tác nhân kích thích, tín

hiệu sinh hóa, bức xạ ion hóa, tia cực tím, tia X. Trong khoảng vài giây, các enzym hoạt động ở bên trong tế bào kích thích lẫn nhau và cắt những thành phần của tế bào. Những enzym “giết chết” này tham gia hoạt động một cách đồng thời:

- Phá hủy khung xương của nhân, làm cho nhân bị xẹp lại, vật chất di truyền trong nhân cũng bị kết đặc lại.
- Phá hủy những enzym nhân đôi và enzym sửa chữa ADN.
- Hoạt hóa những enzym để cắt ADN thành những mảnh nhỏ giống nhau.
- Làm tan rã khung xương của tế bào.
- Kết dính giữa các tế bào vào với nhau.
- Chuyển một số phospholipid từ bên trong màng tế bào ra phía ngoài, lõi cuốn khả năng của thực bào.
- Tế bào sẽ có biểu hiện: sự teo nhân, kết đặc chromatin, ngừng sửa chữa ADN, dừng nhân đôi ADN, enzym cắt ADN hoạt động, tan rã khung xương của tế bào, dính tế bào thành 1 khối, tín hiệu trên bề mặt tế bào cho thực bào.



Hình 1.27. Quá trình chết tế bào có chương trình

Sự chết tế bào có chương trình có hình thái bên ngoài rất đặc trưng, màng tế bào săn sùi và lõm ra. Nhân tế bào bị vỡ, những mảnh ADN được thoát ra, cuối cùng tế bào vỡ ra và chết.

Về cơ sở phân tử, khi nghiên cứu trên chuột, các nhà khoa học đã nhận thấy rằng gen p53 cần thiết đối với chết có chương trình xảy ra khi ADN của tế bào bị tổn thương. ADN bị tổn thương, nếu không được sửa chữa, p53 được hoạt hóa là nguyên nhân làm cho tế bào bị phá hủy. Nếu như gen p53 bị đột biến thì quá trình này không xảy ra, tế bào sẽ không bị phá hủy bởi sự chết có chương trình và tế bào sẽ phân chia, tạo thành các tế bào con với ADN bị tổn thương. Điều này có thể là một cơ chế dẫn đến sự phát sinh ung thư.

4.3. Ý nghĩa

Chết tế bào có chương trình là một quá trình sinh lý đảm bảo sự sinh trưởng và phát triển hài hòa trong thời gian phát triển phôi và bảo vệ cơ thể, thay thế mô ở những cơ thể trưởng thành.

- Những tế bào mô lát của bộ máy tiêu hóa đã được chương trình hóa chết khoảng 2 - 3 ngày sau khi chúng được sinh ra.

- Tế bào biểu bì của da cũng chỉ sống khoảng 2 - 3 tuần và sau đó bong ra hoàn toàn.

Sự chết tế bào có chương trình cũng đóng một vai trò quan trọng của hệ thống miễn dịch.

- Bạch cầu đa nhân trung tính đã được chương trình hóa chết sau 24 giờ sau khi nó được tạo thành trong tủy xương.

- Bạch cầu lympho cũng bị tự sát cùng với tế bào đích trong sự chết có chương trình.

Trong quá trình phát triển phôi, sự phân bào và sự chết tế bào có chương trình xảy ra đồng thời để cho không có mô nào phát triển nhanh quá và không có mô nào phát triển chậm quá.

Ví dụ: gan của đứa trẻ được duy trì ổn định về hình thái cho đến khi trưởng thành.

Trong giai đoạn đầu của sự phát triển cá thể, sự phân bào và sự chết tế bào có chương trình có sự phối hợp với nhau lúc nhanh lúc chậm.

Ví dụ: sự phân bào làm lành vết thương khi bị rách da, trong khi sự chết tế bào có chương trình thì làm bong tế bào da khi bị rám nắng mà các tế bào này có thể trở thành ung thư.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày khái niệm chu kỳ tế bào và các đặc điểm của chu kỳ tế bào.
2. Trình bày đặc điểm các giai đoạn của kỳ đầu I phân bào giảm nhiễm.
3. Trình bày quá trình hình thành tinh trùng ở người.
4. Trình bày quá trình hình thành trứng ở người.
5. Trình bày sự chết tế bào có chương trình.

Bài 6

SỰ VẬN ĐỘNG CỦA TẾ BÀO

MỤC TIÊU

Nêu được các hình thức vận động của tế bào và giải thích được sự vận động của tế bào.

1. TRẠNG THÁI LÝ HỌC CỦA NGUYÊN SINH CHẤT

1.1. Các dạng dung dịch của nguyên sinh chất

Trong nguyên sinh chất có chứa nước, các chất vô cơ, các chất hữu cơ và nhiều hợp chất khác. Các thành phần hóa học kết hợp với nước tạo ra những trạng thái vật lý khác nhau.

Qua nhiều quan sát và khảo cứu, người ta thấy nguyên sinh chất có tính chất của một hệ keo.

Có những chất không hòa tan trong nước như dầu mỡ, các chất này phân tán trong nước thành những giọt rất nhỏ tạo thành nhũ tương. Dạng nhũ tương của nguyên sinh chất là nhũ tương bền, vì trong nguyên sinh chất có nhiều chất keo, đặc biệt là protein và phospholipid, có tính hấp thụ mạnh lại nhiều vật thể trong nguyên sinh chất, do đó ngăn cản sự tiếp xúc và tụ tập của các hạt nhũ tương, vì vậy các vật thể phân tán và lơ lửng trong nguyên sinh chất.

Dung dịch keo trong điều kiện bình thường là một dung dịch khá vững bền và các hạt keo không bị lắng xuống khi dung dịch để yên, vì các hạt keo có mang điện tích cùng dấu, do đó các hạt không tụ tập với nhau để lắng xuống, trái lại chúng đẩy nhau và phân tán trong nước.

Tuy nhiên, khi giảm điện tích bề mặt của các hạt, như thêm vào dung dịch keo chất điện ly thì các hạt bắt đầu dính lại với nhau và kết tủa. Hiện tượng này gọi là hiện tượng đông tụ, có thể quan sát thấy ở các tế bào sống cũng như các tế bào chết, dưới tác dụng của các chất định hình.

Trong các dung dịch keo ta có thể quan sát thấy chuyển động Brown, do sự va chạm của các phân tử dung môi với các hạt keo và giữa các hạt keo với nhau gây ra.

1.2. Tính chất chuyển hóa Sol - Gel

Dung dịch keo tồn tại ở trạng thái lỏng gọi là trạng thái sol. Đặc điểm cấu trúc của trạng thái này là các hạt chất keo phân tán trong dung môi nước. Dung dịch keo từ trạng thái lỏng (sol) dưới tác dụng của những yếu tố lý hóa nhất định, có thể chuyển sang một trạng thái đặc hơn tương đối rắn và co giãn được gọi là trạng thái gel.

Chuyển hóa sol - gel một chiều: có những dung dịch keo chuyển từ trạng thái lỏng sang trạng thái đặc thì không thể chuyển ngược lại. Chẳng hạn lòng trắng trứng khi bị đun nóng thì từ dạng sol chuyển sang gel và không thể chuyển ngược lại được. Huyết tương đông trong phản ứng đông máu cũng là một hiện tượng chuyển hóa sol - gel chỉ theo một chiều sol thành gel mà không chuyển ngược lại được.

1.3. Độ nhớt của nguyên sinh chất

Độ nhớt của nguyên sinh chất đo được bằng cách theo dõi tốc độ lắng của các vật thể của tế bào khi ly tâm: các hạt mỡ, hạt tinh bột, lục lạp hoặc các hạt do người ta đưa vào nguyên sinh chất như các hạt kim loại nhỏ. Người ta còn có thể đánh giá độ nhớt của nguyên sinh chất tế bào bằng cách nghiên cứu chuyển động Brown, chuyển động tự nhiên của các vật thể trong tế bào chất như lục lạp trong tế bào thực vật.

Độ nhớt của nguyên sinh chất lớn gấp 40 – 50 lần so với nước. Độ nhớt thay đổi tùy theo trạng thái sinh lý của tế bào. Khi tế bào tăng cường hoạt động, đang phân chia thì độ nhớt tăng, trái lại khi giảm hoạt động, khi bị ức chế bởi thuốc mê thì độ nhớt giảm.

2. SỰ VẬN ĐỘNG CỦA TẾ BÀO CHẤT VÀ CỦA NHÂN TẾ BÀO

Trong tế bào có sự tuần hoàn liên tục gọi là dòng nội chất. Sự vận động này thấy rõ ở miền nội chất. Các yếu tố vật lý như ánh sáng, nhiệt độ có thể làm tăng tốc độ vận chuyển của dòng nội chất. Các yếu tố hóa học như môi trường nhiều oxy làm tăng vận động, trái lại ête, chlorofoc làm giảm và liệt sự hoạt

động. Khi tế bào còn non sự vận động tế bào chậm, khi trưởng thành thì tốc độ dòng nội chất tăng lên, khi tế bào già thì tốc độ vận chuyển của dòng nội chất lại giảm xuống rất chậm.

Các bào quan trong tế bào chất vận động theo dòng nội chất hoặc có tính vận động riêng biệt. Ty thể có khả năng di động lượn sóng, chuyển động từ nơi cần ít năng lượng đến nơi cần nhiều năng lượng trong tế bào. Lục lạp bị lôi kéo theo dòng nội chất, sự vận động của lục lạp còn chịu tác động của ánh sáng.

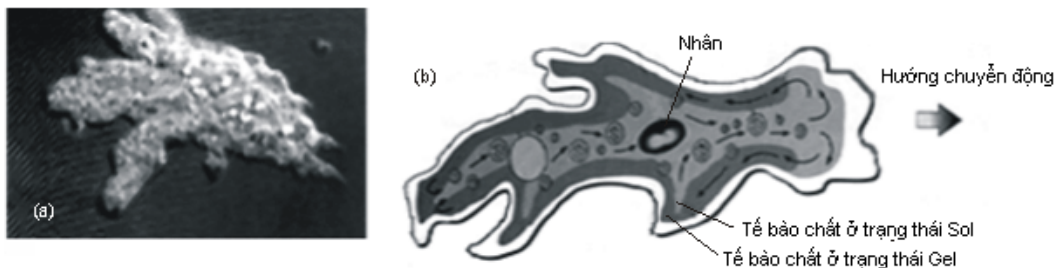
Sự vận động của tế bào chất liên quan đến sự hoạt động của hệ thống ống vi thể, sợi vi thể và sợi trung gian.

Nhân tế bào có tính vận động riêng, tự quay liên tục, do vậy bề mặt của nhân luôn tiếp xúc với những phần khác nhau của tế bào chất.

3. SỰ DI ĐỘNG CỦA TẾ BÀO

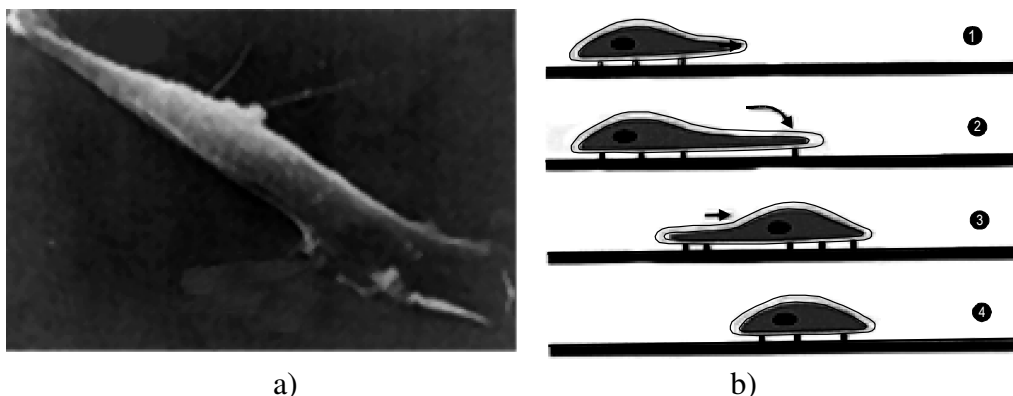
3.1. Sự di động theo lối chân giả

Các động vật đơn bào như amip di động bằng chân giả, phần trước của chân giả tạo thành bởi màng sinh chất mỏng, rồi đến phần ngoại sinh chất tương đối đặc, tiếp theo là nội sinh chất lỏng hơn, chảy về phía chân giả, làm cho tế bào di chuyển theo hướng có chân giả. Các bạch cầu có thể đi qua thành mạch bằng cách phát sinh chân giả, lách giữa hai tế bào để chui ra ngoài.



Hình 1.28. Hình ảnh vi quang học (a) và sơ đồ sự di động bằng chân giả (b) của amip

Sự vận động theo kiểu này chủ yếu liên quan tới tính chất chuyển hóa hai dạng sol - gel của tế bào chất, khi tế bào chất lùi chân giả về phía nào đó, gặp vật rắn thì từ dạng sol chuyển sang dạng gel đặc hơn làm điểm tựa cho tế bào chuyển tới vị trí mới, rồi từ đó lại di động tiếp, theo lối sol - gel.



Hình 1.29. Hình ảnh vi điện tử (a) và mô hình sự trườn trên bề mặt (b) của nguyên bào sợi khi nuôi cấy

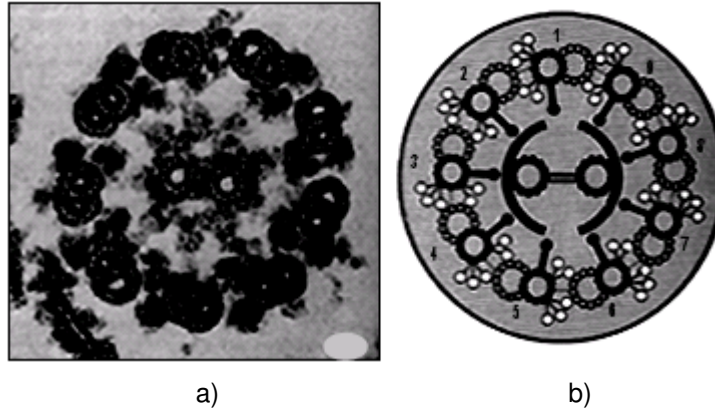
Sự di động bằng chân giả của tế bào theo lối sol - gel có sự tham gia của hệ thống sợi actin. Sự căng của hệ thống sợi actin có tính chu kỳ, nhờ sự trùng hợp và giải trùng hợp của các sợi actin mà tế bào chất chuyển đổi từ trạng thái sol sang trạng thái gel và ngược lại: sự trườn trên bề mặt của tế bào nguyên

bào sợi (Fibroblast) khi nuôi cấy là hình ảnh có sự liên kết của sợi actin là protein kết nối.

3.2. Di động bằng lông, roi

Roi dài hơn lông nhưng có cấu tạo và cơ chế chuyển động giống nhau.

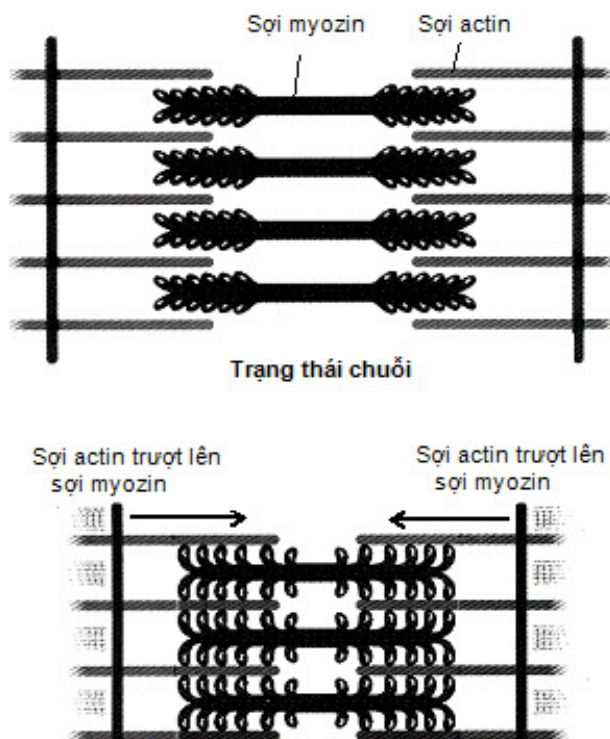
3.2.1. Cấu tạo của lông, roi: Có dạng hình trụ đường kính 0,2 micromet chứa hệ thống ống vi thể xếp song song. Màng của lông, roi là màng sinh chất, lõi của lông, roi gồm hệ thống ống vi thể có 9 đôi ống ngoại vi xếp xung quanh đôi ống trung tâm. Người ta còn gọi mô hình này là mô hình 9 + 2, (có tác giả gọi là mô hình 9 + 1). Cấu trúc 9 + 2 kéo dài theo độ dài của lông roi trừ phần gốc. ở gốc có thể gốc, mô hình cấu trúc gần giống trung tử (9 + 0). Thể gốc còn được coi là nơi có vai trò tái sinh lông, roi.



Hình 1.30. Hình ảnh hiển vi điện tử (a) và mô hình cấu trúc lông, roi (b) theo cơ chế 9 + 2

3.2.2. Lông roi ở vi khuẩn: lông có chiều dài từ 19 - 20 micromet, trong một tế bào có nhiều lông có khi đạt 300 lông trong một tế bào, có cấu trúc đơn giản không theo cấu trúc 9 + 2.

Roi có chiều dài lớn hơn đạt tới 150 micromet chỉ có một đến hai chiếc/một tế bào. Đuôi của tinh trùng được xem như roi và có cấu tạo giống roi.



3.2.3. Sự di động của tế bào bằng lông, roi: lông và roi có vai trò vận động, nhờ lông, roi mà các động vật đơn bào chuyển động trong nước, tinh trùng chuyển động ngược dòng ống sinh dục, nhờ sự chuyển động nhịp nhàng của các tế bào biểu mô lót các thành ống tạo nên dòng chảy trong lòng ống. Trong cấu trúc lông, roi các ống vi thể nối với nhau bằng protein quả đấm gọi là cánh tay dynein. Sự chuyển động của lông, roi là do sự trượt của các đôi ống vi thể ngoại vi do cánh tay dynein đảm nhận. Khi có ATP và Ca^{2+} thì cánh tay dynein liên kết với đôi ống bên cạnh và trung tâm hoạt tính ATPase của dynein liên kết với ATP; thủy phân ATP thành ADP và P giải phóng năng lượng; do đó ống vi thể thay đổi hình dạng uốn cong. Đây là cơ chế hoạt động uốn cong để chuyển động của lông roi.

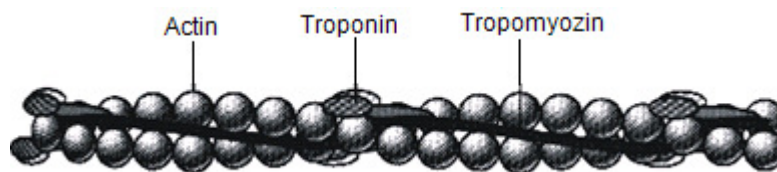
3.3. Sự vận động của tế bào cơ

Các cơ của động vật chia làm 3 loại:

Cơ vân thường bám xương, khi co duỗi làm khớp xương, vận động. Cơ vân là loại cơ vận động theo ý muốn.

Cơ trơn là loại cơ thường ở nội tạng (dạ dày, ruột...) vận động không theo ý muốn. Cơ tim là loại cơ vân đặc biệt, vận động không theo ý muốn, theo cơ chế tự điều khiển. Trong tế bào cơ, các sợi vi thể actin kết hợp với sợi vi thể myozin tạo nên các sợi cơ (myofibrils). Sự co hoặc duỗi của cơ chính là hoạt động của sợi myozin và sợi actin.

Khi cơ co các sợi vi thể actin trượt lên sợi vi thể myozin, mấu bên của sợi myozin liên kết với actin qua trung tâm kết hợp tạo nên phức hợp actomyozin. Sự kết hợp này cần có ATP; khi có ion Ca^{2+} , thì ion Ca^{2+} sẽ bám vào troponin làm dịch chuyển tropomyozin để lộ các trung tâm liên kết giữa myozin và actin. (troponin là một loại protein hình cầu, phủ các vị trí kết hợp giữa myozin và actin). Troponin có ái lực mạnh với Ca^{2+} . Vì vậy khi có năng lượng của ATP thì myozin biến đổi hình thù liên kết với trung tâm actin làm cơ co. Khi cơ duỗi là khi ion Ca^{2+} tách bỏ troponin làm cho tropomyozin dịch chuyển lại, phủ che trung tâm kết hợp (tropomyozin là protein sợi có đường kính 2nm, chiều dài 40nm gồm hai mạch polypeptid xoắn với nhau. Các phân tử tropomyozin liên kết với các sợi actin theo rãnh xoắn). Cứ theo cơ chế như vậy mà cơ co, duỗi tạo nên sự vận động của tế bào cơ.



Hình 1.32. Mô hình cấu trúc phân tử troponin và tropomyozin.

4. HỆ THỐNG KẾT DÍNH CỦA TẾ BÀO

Trong mô đa bào, các tế bào liên kết với nhau qua khoảng gian bào, khoảng gian bào được giới hạn bởi màng của các tế bào cạnh nhau và chứa các phân tử đặc trưng trên bề mặt tế bào, các chất có chức năng kết dính các tế bào với nhau.

Hệ thống kết dính tế bào chủ yếu dựa vào sự tác động tương hỗ giữa các nhóm chức hóa học, các cầu nối trung gian giữa các ion, lực tĩnh điện giữa hai tế bào.

Sự kết dính tế bào được dựa vào các cơ chế khác nhau. Ví dụ kết dính theo kiểu kháng nguyên, kháng thể - enzym, sự kết dính bởi fibronectin - như đã trình bày ở phần protein màng.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Nêu sự di động của tế bào theo lối chân giả. Cho một ví dụ minh họa.
2. Nêu cấu tạo của lông, roi và sự di động của tế bào bằng lông roi.
3. Nêu sự vận động của tế bào cơ.

Chương 2

DI TRUYỀN HỌC

Bài 7

NỘI DUNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

MỤC TIÊU

1. *Nêu được quá trình hình thành di truyền học Mendel và sau Mendel.*
2. *Trình bày được quá trình hình thành di truyền học phân tử.*
3. *Nêu được các nội dung và phương pháp nghiên cứu di truyền học.*

1. LƯỢC SỬ CỦA DI TRUYỀN HỌC

Lược sử di truyền học là quá trình hình thành các nhận thức, các khái niệm của loài người về sự sống, về tính di truyền, về tính biến dị của sinh vật.

Trước khi di truyền học trở thành một môn khoa học với những cơ sở khoa học, đã có những nhận thức, những quan niệm chưa có cơ sở khoa học.

Trước hết phải đề cập nhận thức, những quan niệm về tiến hóa luận, phải trả lời câu hỏi: sinh vật có biến đổi hay không ?

- Quan niệm sinh vật bất biến: quan niệm này kéo dài trong thời thượng cổ với các đạo giáo và chế độ phong kiến, cho mãi đến thế kỷ 16.
- Quan niệm sinh vật có biến đổi: Lamarck là người đã đề xuất một cách có hệ thống về tiến hóa của sinh giới, lấy hiện tượng di truyền tập nhiễm làm cơ sở.

Darwin với cuốn sách "Nguồn gốc các loài" đã trình bày học thuyết tiến hóa của mình, với hai đặc điểm riêng của sinh vật: tính di truyền và tính biến dị, và hai quá trình chọn lọc: chọn lọc tự nhiên và chọn lọc nhân tạo.

1.1. Quá trình hình thành di truyền học Mendel và sau Mendel

Song song với nhận thức về tiến hóa luận, quan niệm về di truyền học cũng thay đổi trong lịch sử: từ thời xưa, người ta đã chú ý đến tính di truyền của sinh vật, và đã biết áp dụng phương pháp chọn lọc cây và con súc vật, thuần hóa và lai giống. Nhưng thời bấy giờ, loài người chưa hiểu biết về di truyền và chưa giải thích được hiện tượng di truyền trong tự nhiên, thậm chí có những giải thích sai lầm. Những thành tựu của tế bào học, phôi thai học trong thế kỷ 17 đã tạo cơ sở khoa học để di truyền học dần dần trở thành một môn khoa học. Nhưng di truyền học chỉ được bắt đầu với công trình nghiên cứu lâu dài, tỉ mỉ của Mendel.

Mendel đã thực hiện công trình nghiên cứu rất công phu, kết quả và phương pháp nghiên cứu cho đến nay vẫn còn đầy đủ giá trị. Ông đã trình bày công trình của mình vào năm 1865. Nhưng bản báo cáo

của Mendel đã không được giới khoa học lúc bấy giờ chú ý. Mendel đã thấy tính trạng của cơ thể do nhân tố di truyền chi phối (đó chính là gen theo hiểu biết hiện nay).

Phát minh của Mendel bị bỏ qua 34 năm. Năm 1900, vào cùng một thời gian, ba nhà khoa học ở 3 nước khác nhau (De Vries, Tschermak và Correns) thực nghiệm trên các đối tượng khác nhau đã công bố kết quả thực nghiệm. Những kết quả này tương tự như kết quả của Mendel. Cũng vào thời gian này đã có những phát minh mới về quá trình phân chia tế bào, sự tạo giao tử, quá trình thụ tinh và quá trình phát triển phôi thai. Những tiến bộ này đã tạo cơ sở cho việc hiểu biết về di truyền. Từ đó người ta mới hiểu ý nghĩa lớn lao trong công trình nghiên cứu của Mendel và bắt đầu công bố chính thức các định luật cơ bản về di truyền mang tên Mendel. Bởi vậy năm 1900 được xem là năm chính thức hình thành di truyền học.

Nguyên lý Mendel từ đó được ứng dụng rộng rãi trong nhiều môn di truyền học của thực vật, động vật và người.

Năm 1902, Boveri đã có nhận định: số lượng nhiễm sắc thể được di truyền ổn định trong loài, và nhiễm sắc thể có vai trò trong di truyền. Sau đó vào năm 1903, Boveri và Sutton đã xác định vai trò của nhiễm sắc thể trong việc di truyền từ thế hệ này sang thế hệ khác. Năm 1909 Johannsen đã đề nghị dùng thuật ngữ "gen" để chỉ nhân tố di truyền.

Năm 1910, Morgan cùng các đồng nghiệp sau những công trình nghiên cứu công phu trên ruồi giấm, đã xác định: gen, vật chất mang thông tin di truyền xếp dọc thành một hàng trên nhiễm sắc thể và tạo thành các nhóm liên kết, đã phát hiện hiện tượng di truyền liên kết giới tính, và đã phát hiện được hiện tượng trao đổi chéo trong quá trình tạo giao tử.

Như vậy, sau khi các định luật cơ bản do Mendel phát hiện, nhiều phát minh đã tìm hiểu và xác nhận nhân tố di truyền mà Mendel đã đề xuất, đó chính là các gen nằm trên các nhiễm sắc thể, chi phối các tính trạng của cơ thể.

Gen có cấu trúc ra sao và hoạt động như thế nào trong các quy luật di truyền - đây là những vấn đề mà di truyền phân tử phải trả lời.

1.2. Quá trình hình thành di truyền học phân tử

1.2.1. Sự phát hiện ra các acid nucleic

Acid nucleic được phát hiện bởi Miescher từ năm 1869. Miescher và các nhà nghiên cứu sau đó đã xác định rõ thành phần của ADN gồm có đường 5 carbon, base và acid phosphoric.

Người ta cũng đã khẳng định acid nucleic có thể thấy trong nhân của mọi loài sinh vật.

Bằng những quan sát, bằng những thí nghiệm ngay từ những năm đầu của thế kỷ XX, người ta đã xác định vật chất di truyền ở mức độ phân tử của đa số các loài là ADN một số loài virus là ARN; những thành tựu của di truyền học gần đây đã chứng minh rõ ràng vai trò của acid nucleic quyết định các đặc điểm di truyền của cơ thể (xem phần các bằng chứng xác định vai trò truyền đạt thông tin di truyền của acid nucleic).

1.2.2. ADN truyền đạt thông tin như thế nào ?

Năm 1941 Beadle và Tatum công bố công trình nghiên cứu về vai trò của ADN ở *Neurospora*, kết quả quan trọng nhất của công trình này là:

Một gen → Một enzym

Bằng sơ đồ này các tác giả đã nêu rõ vai trò chi phối sự tổng hợp protein của gen.

ADN có cấu trúc như thế nào để thực hiện được chức năng truyền đạt thông tin di truyền ?

Câu hỏi này đã được Watson và Crick giải đáp một cách thoả đáng với mô hình cấu trúc không gian của phân tử ADN và hai chức năng quan trọng của nó: tự nhân đôi và phiên mã.

Cơ chế điều hòa hoạt động của các gen được Jacob, Monod phát hiện ở vi khuẩn năm 1961.

Năm 1962 Arber nhận xét về sự có mặt của enzym giới hạn (enzym cắt), một dụng cụ hữu hiệu để nghiên cứu, phân tích phân tử ADN.

Năm 1964, Nirenberg và Leder đã đề ra phương pháp để xác định mã của các acid amin.

Năm 1966 Nirenberg, Ochoa và Khorana xác định được mã bộ ba của tất cả các acid amin.

Năm 1968, rồi năm 1972 Khorana đã tổng hợp được gen bằng con đường tổng hợp gen nhân tạo.

Năm 1969 Beckwith đã chiết tách được gen từ vi khuẩn E. coli.

Năm 1970, Temin và các đồng nghiệp chứng minh có thông tin ngược: $ARN \rightarrow ADN$ ở các virus chứa ARN.

Như vậy, đồng thời với quá trình phiên mã xuôi: $ADN \rightarrow ARN$ đã có hiện tượng phiên mã ngược: $ARN \rightarrow ADN$.

Năm 1985, Mullis công bố phản ứng chuỗi polymerase PCR (Polymerase Chain Reaction) một phản ứng để nhân lượng một đoạn ADN nào đó in vitro. Kỹ thuật PCR đã trở thành một trong các kỹ thuật được sử dụng nhiều nhất trong lĩnh vực sinh học phân tử.

Bằng nhiều phương pháp, kỹ thuật khác nhau, bản đồ gen của một số loài sinh vật đã được xây dựng. Ngày 12 tháng 2 năm 2001 tạp chí Nature đã công bố bản đồ gen của người với hầu hết các trình tự đã được giải mã.

Với các thành tựu kể trên, những tiến bộ về kỹ thuật di truyền học nói chung, di truyền học phân tử nói riêng đã trở thành một khoa học quan trọng trong phục vụ sản xuất, phục vụ sức khỏe của con người.

2. NỘI DUNG CỦA DI TRUYỀN HỌC

Sinh vật có hai thuộc tính riêng: tính di truyền và tính biến dị.

Di truyền học nghiên cứu hai thuộc tính đó của sinh vật ở những đối tượng khác nhau, và ứng dụng những hiểu biết hai thuộc tính đó vào phục vụ con người: cải tạo giống cũ, tạo giống mới nâng cao năng suất của vật nuôi cây trồng, tạo những chế phẩm sinh học bằng công nghệ sinh học, bảo vệ sức khỏe con người, thực hiện ưu sinh cho nòi giống.

Di truyền học nghiên cứu với các đối tượng khác nhau:

- Di truyền học người.
- Di truyền học y học.
- Di truyền học vi khuẩn.
- Di truyền học động vật.
- Di truyền học thực vật...

Để thực hiện nghiên cứu hiện tượng di truyền, biến dị ở những đối tượng kể trên có sự kết hợp giữa di truyền và những môn khoa học khác để hình thành những môn học liên quan:

2.1. Di truyền học tế bào

Di truyền học tế bào nghiên cứu vật chất di truyền ở mức độ tế bào, đặc biệt là nhiễm sắc thể. Năm 1882 Flemming đã nghiên cứu chất nhiễm sắc và nhiễm sắc thể. Nhiễm sắc thể của rất nhiều loài sinh vật đã được xác định về số lượng và hình thái. Đột biến nhiễm sắc thể là một lĩnh vực của di truyền học tế bào.

Từ những năm 1970 trở lại đây, kỹ thuật hiện băng trên nhiễm sắc thể đã được thực hiện với nhiều loài sinh vật, trước hết là nhiễm sắc thể của người, sau đó là nhiễm sắc thể của một số loài gia súc, gia cầm, của chuột thí nghiệm, của ruồi giấm.

Các chất nhiễm sắc giới tính ở trong nhân gian kỳ cũng được nghiên cứu.

2.2. Di truyền học phân tử

Di truyền học phân tử nghiên cứu cấu tạo và sự hoạt động của vật chất di truyền ở mức độ các phản ứng hóa học, ở mức độ phân tử. Gen và hoạt động của gen là vấn đề quan trọng nhất. Từ khi Watson và Crick đề ra mô hình cấu tạo ADN, di truyền học phân tử đã bước vào giai đoạn mới, và đã đạt được những tiến bộ vượt bậc. Những hiểu biết về di truyền phân tử đã giải thích rõ nhiều hiện tượng di truyền, trong số đó có những trường hợp bệnh lý, đặc biệt là hiện tượng rối loạn chuyển hóa bẩm sinh; những hiểu biết về di truyền học phân tử tạo cơ sở để thực hiện kỹ học di truyền, một mặt của công nghệ sinh học.

Thành công trong nghiên cứu bộ gen của người đã đẩy mạnh sự nghiên cứu hệ protein (proteome) của người. Hai lĩnh vực của di truyền học phân tử: nghiên cứu bộ gen (genomics) và nghiên cứu hệ protein (proteomics) đã hỗ trợ nhau, đẩy mạnh di truyền học phân tử lên một tầm cao mới, để có thể giải quyết nhiều vấn đề có ý nghĩa thực tiễn trong cuộc sống.

2.3. Di truyền học miễn dịch

Di truyền học miễn dịch nghiên cứu về các quy luật di truyền nhóm máu, di truyền kháng nguyên, kháng thể. Cơ sở của ghép là di truyền học miễn dịch. Ngoài ra di truyền học còn nghiên cứu cơ chế sinh kháng thể, hiện tượng di truyền tính kháng nhiễm và những đặc điểm của thể tạng.

2.4. Di truyền học dược lý

Nội dung chủ yếu của di truyền học dược lý là nghiên cứu sự tổng hợp, sự hoạt động của một số enzym chuyển hóa thuốc trong cơ thể, tình trạng bình thường và tình trạng không bình thường của quá trình chuyển hóa thuốc.

Di truyền học dược lý cũng nghiên cứu tác động của một số dược liệu, một số thuốc hoặc một số chế phẩm sinh học đối với vật liệu di truyền với những biểu hiện tức thời hoặc những hậu quả lâu dài cho các thế hệ.

2.5. Di truyền học quần thể

Di truyền học quần thể nghiên cứu những quy luật di truyền của các đặc điểm hình thái, sinh lý, hóa sinh, bệnh lý của quần thể. Di truyền học quần thể xác định tần số gen, tần số kiểu gen, tần số kiểu hình của quần thể, tìm những nguyên nhân dẫn đến biến đổi tần số gen trong quần thể...

2.6. Đột biến

Nghiên cứu đột biến là một lĩnh vực quan trọng của di truyền học. Người ta phát hiện các tác nhân gây đột biến (mutagen), hiệu quả của các đột biến ở mức độ nhiễm sắc thể hoặc ở mức độ gen ở tế bào sinh dưỡng hoặc tế bào sinh dục. Tùy theo tác nhân được nghiên cứu mà chia ra:

- Đột biến do phóng xạ
- Đột biến do hóa chất.
- Đột biến do tác nhân sinh học: virus, vi khuẩn...

2.7. Các bệnh di truyền

Các bệnh hay các khuyết tật di truyền ở mức độ nhiễm sắc thể hay mức độ gen đều là hậu quả của đột biến. Người ta nghiên cứu nguyên nhân sinh bệnh, phương pháp chẩn đoán, phương hướng đề phòng và chữa bệnh tật di truyền. Mọi mô, mọi cơ quan đều có thể mắc các bệnh, các khuyết tật di truyền. Tế bào ung thư được coi là tế bào bị đột biến, bộ máy di truyền của nó bị rối loạn. Từ những tế bào lành sinh sản bình thường chuyển sang tế bào ung thư, sinh sản hỗn loạn.

2.8. Di truyền học công nghệ

Môn học ứng dụng các hiểu biết về di truyền và ứng dụng các thành tựu của kỹ thuật để sản xuất ra các chế phẩm sinh học: vacxin thể hệ mới, một số hormon, một số chất kích thích sinh trưởng với quy mô lớn và tốc độ nhanh hơn. Bằng phương pháp chiết tách và ghép gen, người ta đã tạo ra các vi khuẩn sản xuất insulin, sản xuất ovalbumin, sản xuất vacxin... với quy mô công nghiệp.

3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

3.1. Phương pháp tạp giao thực nghiệm

Phương pháp tạp giao thực nghiệm là phương pháp nghiên cứu di truyền học kinh điển và hiện nay vẫn là phương pháp chủ yếu áp dụng cho động vật và thực vật.

Cho hai loài hoặc hai chủng giao phối với nhau rồi theo dõi các tính trạng ở các thế hệ con. Muốn phân tích được quy luật di truyền cần phải chọn hai mẫu sinh vật có một hoặc vài tính trạng đối lập nhau để theo dõi các tính trạng qua các thế hệ. Ví dụ: chủng đậu thân cao với chủng đậu thân thấp, chuột lông xám với chuột lông trắng...

Mẫu sinh vật cần có các điều kiện:

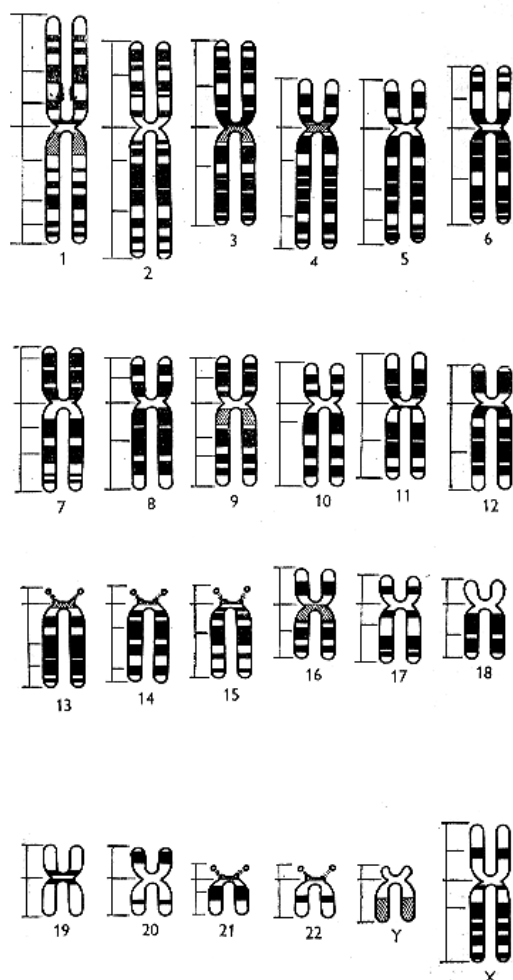
- Có chu kỳ đời sống ngắn.
- Sinh được nhiều thế hệ con.
- Cho nhiều biến dị.
- Dễ duy trì.

Căn cứ vào điều đó, các nhà di truyền học đã chọn được một số loài động vật, thực vật đáp ứng được bốn điều kiện như trên: ruồi giấm khoảng 10 - 15 ngày cho một thế hệ, chuột nhắt trắng (*Mus musculus*) cứ hai tháng rưỡi cho một thế hệ. Các sinh vật có đời sống rất ngắn như nấm *Neurospora crassa* thường được dùng để nghiên cứu hoạt động của gen. Vi khuẩn, virus, gần đây được sử dụng nhiều, lúa mạch và ngô là thực vật bậc cao cũng được nghiên cứu rộng rãi.

3.2. Phương pháp di truyền học tế bào

Kỹ thuật được dùng phổ biến hiện nay là phát hiện và quan sát nhiễm sắc thể. Để phát hiện bộ nhiễm sắc thể của tế bào sinh dưỡng, người ta thường dùng các mô gồm nhiều tế bào đang phân chia mạnh như tủy xương, mô bào thai, chóp rễ, đỉnh sinh trưởng của cây... đối với những mô hoặc những tế bào ít hoặc không phân chia thì phải kích thích để cho tế bào phân chia. Để phát hiện bộ nhiễm sắc thể trong quá trình tạo giao tử, người ta thường dùng các tế bào trong tuyến sinh dục đực hoặc cái.

Từ những năm 70 của thế kỷ XX xuất hiện phương pháp lai tế bào soma. Bằng kỹ thuật nuôi cấy tế bào và nhờ một số tác nhân có thể làm cho hai tế bào của cùng một loài hoặc của hai loài sinh vật khác nhau hòa nhập vào nhau thành một tế bào lai mang cả hai bộ gen của hai tế bào bố mẹ. Với các tế bào lai, người ta có thể khảo sát nhiều tính chất sinh học của tế bào, sử dụng hoạt động của các gen, các tính chất di truyền của tế bào soma và góp phần tích cực xác lập bản đồ gen.



Hình 2.1. Nhiễm sắc thể của người (nhuộm băng)

Kỹ thuật băng trên nhiễm sắc thể được đề xuất và phát triển từ những năm 1970 đã góp phần quan trọng trong việc nghiên cứu nhiễm sắc thể trong trạng thái bình thường và trong trạng thái đột biến.

Gây đột biến nhân tạo nhiễm sắc thể là một phương pháp được sử dụng rộng rãi trong công tác chọn giống. Xét nghiệm nhiễm sắc thể đã trở thành một xét nghiệm thông thường trong bệnh di truyền liên quan với đột biến nhiễm sắc thể.

Tuy di truyền học phân tử đang chiếm phần rất quan trọng trong di truyền học, nhưng di truyền học tế bào vẫn góp phần cần thiết cho sự phát triển của di truyền học.

3.3. Kỹ thuật di truyền phân tử

Để nghiên cứu di truyền phân tử có nhiều phương pháp, nhiều kỹ thuật đã được đề xuất, sau đây là tóm tắt nội dung một số phương pháp cơ bản:

3.3.1. Tách chiết ADN

Hầu hết ADN có ở trong nhân tế bào, trên các nhiễm sắc thể; nhiễm sắc thể của Eukaryota có ADN và protein. Vì vậy, để tách chiết ADN trước hết phải phá màng tế bào, màng nhân, sau đó phải loại bỏ protein, sau cùng phải rửa ADN. Khi ADN đã tinh sạch có thể định lượng, định tính ADN bằng phương pháp điện di với gel agarose hoặc với gel polyacrylamid, hoặc định lượng ADN bằng mật độ quang.

3.3.2. Xác định trình tự nucleotid trong phân tử ADN

Về nguyên lý có thể xác định trình tự nucleotid của cả bộ gen, nhưng trong những điều kiện trước đây, người ta mới chỉ xác định trình tự nucleotid ở những đoạn ADN xác định.

Có hai phương pháp đã được áp dụng để xác định trình tự nucleotid: phương pháp hóa học và phương pháp enzym học.

3.3.3. Lai acid nucleic

Lai acid nucleic tạo ra các phân tử ADN tái tổ hợp, từ đó tạo nên các dòng tế bào, các chủng sinh vật mới hoặc để phát hiện ra các trình tự ADN cần tìm.

3.3.3.1. Enzym giới hạn (enzym cắt)

Enzym giới hạn được chiết tách từ vi khuẩn. Tùy theo loài vi khuẩn mà có enzym giới hạn có tên tương ứng. Ví dụ: EcoRI, Bam HI, Sma I... Đặc điểm của enzym giới hạn là cắt phân tử ADN ở những chỗ xác định tùy theo từng loại enzym. Enzym cắt cả hai sợi đơn của phân tử ADN sợi kép để lại phần đầu tương ứng với đoạn ADN sẽ ghép vào đó.

3.3.3.2. Sự tạo dòng tế bào (clôn hóa đoạn ADN)

Dùng enzym giới hạn để cắt ADN cho ở vị trí cần thiết đồng thời cũng dùng enzym đó để cắt ADN nhận hay còn gọi là thể chuyển (vector). Dùng enzym nối (ligase) để nối đoạn ADN cho vào phân tử ADN nhận tạo nên phân tử ADN lai. Phân tử ADN lai được dùng để tạo ra dòng tế bào mới in vivo hoặc in vitro. Ví dụ phân tử ADN lai được đưa vào vi khuẩn, cùng với sự nhân lên của vi khuẩn, phân tử ADN lai cũng được nhân lên tạo nên dòng vi khuẩn mang tính chất mới do phân tử ADN mới quy định.

3.3.3.3. Tạo ADN dò (hay probe)

Sự lựa chọn clôn thích hợp, có nghĩa là clôn chứa đoạn ADN đích đặc trưng cần tìm được thực hiện nhờ ADN dò, đó là đoạn ADN hay ARN sợi đơn mà đặc điểm, tính chất của chúng đã được biết, có khả năng lai với đoạn ADN đích (sợi đơn) theo nguyên tắc bổ sung.

ADN dò có thể được tạo thành từ các nucleotid đơn hoặc bằng cách chiết xuất từ ADN của nhiễm sắc thể hoặc bằng sự tổng hợp ADN bổ sung (cDNA) được tổng hợp từ khuôn mARN.

ADN dò có thể được đánh dấu bằng ^{32}P hoặc bằng biotin.

3.3.3.4. Southern blotting

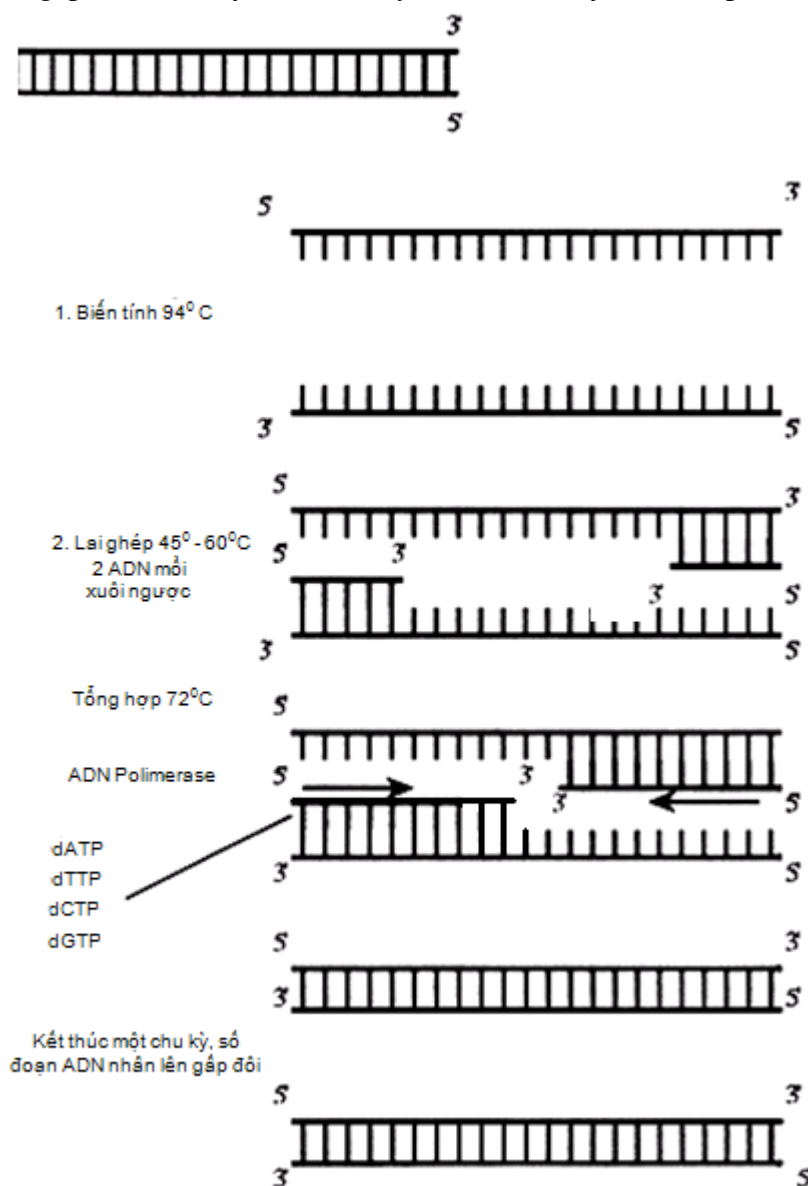
Kỹ thuật được Southern đề xuất vào năm 1975, kỹ thuật này ngày nay đã trở thành một kỹ thuật được sử dụng rộng rãi.

ADN từ mẫu sinh vật được cắt thành từng đoạn kích thước khác nhau bằng các enzym giới hạn khác nhau, trong số các đoạn ADN được cắt ra có thể có đoạn mang ADN đích cần tìm. Các đoạn ADN này được điện di bằng gel agarose, sau đó cầu nối hydro giữa hai mạch đơn của các đoạn ADN này được cắt do xử lý với NaOH hoặc bằng nhiệt. Sau đó gel chứa ADN sợi đơn được chuyển sang giấy lọc và được phủ bằng nitrocellulose. Sau cùng nitrocellulose đã thấm ADN sợi đơn được đưa vào dung dịch có chứa ADN dò. Trong dung dịch đó, ADN dò sẽ phát hiện ADN đích (cả hai đều ở dạng sợi đơn) và sẽ

kết hợp với nhau tạo nên phân tử lai. Màng nitrocellulose được rửa trong dung dịch đậm. Với ADN dò đã đánh dấu với ^{32}P hoặc bằng biotin, phân tử ADN lai mang ADN đích sẽ hiện rõ.

3.3.3.5. Lai tại chỗ trên nhiễm sắc thể

Kỹ thuật này là sự gặp nhau của kỹ thuật di truyền tế bào và kỹ thuật lai phân tử.



Hình 2.2. Các giai đoạn của một chu kỳ PCR

Nhiễm sắc thể ở kỳ giữa trên lam kính được loại bỏ ARN và protein bằng ARNase và proteinase K. Nhiễm sắc thể được lai với ADN dò đã được đánh dấu, sau đó nhiễm sắc thể được nhuộm bằng phẩm nhuộm thích hợp và quan sát ở kính hiển vi.

Bằng kỹ thuật này có thể phát hiện nhanh những đột biến nhiễm sắc thể, một số dạng đột biến ADN trên nhiễm sắc thể. Đó chính là cơ sở của kỹ thuật lai tại chỗ huỳnh quang (FISH).

3.3.4. Phản ứng chuỗi polymerase PCR (Polymerase Chain Reaction)

PCR là kỹ thuật nhân lên một đoạn ADN nào đó in vitro. Để thực hiện PCR phải có mồi (primers), đó là những oligonucleotid tương ứng với mỗi đầu của đoạn ADN cần nhân lên. Với sự có mặt của mồi,

của một loại enzym polymerase chịu nhiệt (Taq polymerase) và 4 loại nucleotid, đoạn ADN được nhân lên. Sau mỗi chu kỳ (khoảng 10 phút) từ một phân tử ADN có hai phân tử ADN được tạo thành. Tùy theo nhu cầu về lượng ADN mà số chu kỳ của PCR được xác định.

3.3.5. Một số phương pháp được dùng trong Di truyền y học

Trong di truyền y học, phương pháp tạp giao thực nghiệm không được áp dụng. Ngoài các phương pháp di truyền tế bào, phương pháp di truyền phân tử, người ta còn dùng các phương pháp xây dựng và phân tích gia hệ, phương pháp khảo sát con sinh đôi, phương pháp in và phân tích nếp vân da, phương pháp điều tra di truyền dịch tễ học và phương pháp di truyền lâm sàng.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Nêu quá trình hình thành di truyền học Mendel và sau Mendel.
2. Trình bày quá trình hình thành di truyền học phân tử.
3. Nêu các nội dung và phương pháp nghiên cứu di truyền học.

Bài 8

CÁC NGUYÊN LÝ VÀ QUY LUẬT CƠ BẢN CỦA SỰ DI TRUYỀN

MỤC TIÊU

1. Giải thích được khái niệm một số thuật ngữ, một số ký hiệu thường dùng trong di truyền.
2. Trình bày được các quy luật di truyền của Mendel.
3. Trình bày được di truyền đơn gen, sự tương tác của hai gen không alen phân ly độc lập cùng quy định một tính trạng.
4. Nêu được khái niệm và đặc điểm của di truyền đa gen, di truyền đa nhân tố.
5. Trình bày được sự liên kết gen và sự tái tổ hợp các gen trong nhóm liên kết.
6. Trình bày được sự di truyền giới tính và di truyền liên kết giới tính.
7. Trình bày được sự di truyền ngoài nhiễm sắc thể.

1. MỘT SỐ THUẬT NGỮ VÀ KÝ HIỆU

1.1. Tính trạng

Tính trạng là các đặc điểm, các nét đặc trưng có thể quan sát được trong quá trình phát triển cá thể hoặc trên cá thể đã phát triển hoàn chỉnh, bao gồm các đặc điểm hình thái, cấu trúc, sinh lý, tâm thần... của cơ thể sinh vật.

Tính trạng di truyền được tạo thành do hoạt động của gen, do các alen của một gen hoặc do nhiều gen không alen thuộc các locus khác nhau cùng chi phối trong mối tương tác với các điều kiện môi trường.

1.2. Phenotyp (kiểu hình)

Phenotyp là tập hợp các tính trạng và các tính chất có thể quan sát nhận biết được của một cơ thể được hình thành trên cơ sở tương tác giữa genotyp và môi trường sống của cơ thể đó tạo nên, là các biểu hiện ra tính trạng của genotyp.

Thuật ngữ phenotyp áp dụng cho toàn bộ mọi biểu hiện của genotyp nhưng cũng có thể chỉ nói tới kiểu hình của một hoặc vài tính trạng riêng biệt.

Nói chung phenotyp không bao giờ phản ánh đầy đủ genotyp mà chỉ phản ánh một phần của genotyp được thực hiện trong những điều kiện xác định của quá trình phát triển cá thể.

1.3. Genotyp (kiểu gen)

Genotyp là toàn bộ các thông tin di truyền (các gen) chứa trong các nhiễm sắc thể của sinh vật Prokaryota và Eukaryota. Genotyp xác định phạm vi phản ứng của cơ thể trong những điều kiện ngoại cảnh biến đổi, tương tác với những điều kiện ngoại cảnh đó làm hình thành phenotyp của cá thể.

Thuật ngữ genotyp cũng được dùng để chỉ cấu trúc di truyền về các alen ở một hoặc một số nhỏ locus nào đó đang được xem xét. Ví dụ người nhóm máu A có genotyp là $I^A I^A$ hoặc $I^A i$.

Idiotyp là "kiểu gen cá thể", bao gồm toàn bộ các yếu tố di truyền trong mỗi tế bào cơ thể, gồm bộ gen trên nhiễm sắc thể và các gen ngoài nhiễm sắc thể. Có tác giả dùng thuật ngữ genotyp bao gồm tất cả các cấu trúc vật chất di truyền của tế bào gồm các gen trên nhiễm sắc thể (chromotype) và các gen ngoài nhân (plasmotype). (Có nghĩa rằng trong trường hợp này, idiotyp đồng nghĩa với genotyp).

1.4. Alen

Alen là một trong hai hoặc nhiều dạng cấu trúc khác nhau của cùng một gen, thuộc cùng locus xác định tương ứng trên cặp nhiễm sắc thể tương đồng, xác định các phenotyp tương ứng khác nhau của cùng một tính trạng.

1.5. Các ký hiệu thường dùng

P: chữ viết tắt của từ parental generation, để chỉ các thế hệ bố mẹ khi giao phối. Xuất phát từ một cá thể nào đó thì thế hệ bố mẹ của cá thể đó được gọi là P_1 , thế hệ ông bà của cá thể đó (bố mẹ của P_1) được gọi là P_2 và cứ thế ngược trở lên sẽ được gọi là $P_3, P_4, \dots$

F: chữ viết tắt của từ filial generation để chỉ các thế hệ con cháu khi giao phối. F_1 chỉ thế hệ con lai thứ nhất (do thế hệ P sinh ra); F_2 chỉ thế hệ con lai thứ hai (do thế hệ F_1 sinh ra); F_3 chỉ thế hệ con lai thứ ba (do thế hệ F_2 sinh ra).

Ký hiệu các alen: các chữ cái in hoa ký hiệu cho alen trội hoàn toàn, còn chữ cái in thường ký hiệu cho alen lặn. Chữ cái được chọn làm ký hiệu là chữ đầu tiên của tên tính trạng biến dị hoặc đột biến, phân biệt với tính trạng bình thường (còn gọi là tính trạng kiểu dại) là tính trạng phổ biến nhất trong

quần thể.

Ví dụ: hạt đậu màu vàng là phổ biến hơn rất nhiều so với hạt đậu màu lục nên alen được ký hiệu là chữ g (g là chữ đầu tiên của từ green nghĩa là màu lục, và ký hiệu bằng chữ thường vì là tính trạng lặn). Do đó alen tương ứng quy định tính trạng trội màu vàng sẽ là chữ cái in hoa tương ứng với g là G.

Trong một số thư liệu, tính trạng kiểu dại được ký hiệu bằng dấu +, còn tính trạng không bình thường hoặc đột biến được ký hiệu bằng chữ in hoa hoặc chữ thường tùy theo là trội hay lặn.

Đối với tương quan gen alen đồng trội thì ký hiệu các alen đều viết bằng chữ cái in hoa tương ứng với tên từng tính trạng vì mỗi alen đều có biểu hiện tính chất của mình. Ví dụ gen quy định nhóm máu MN được ký hiệu bằng chữ L^M và L^N cho hai alen, trong đó chữ L là ký hiệu gen về nhóm máu này để kỷ niệm cho người đã phát hiện ra nhóm máu này là Landsteiner và Levine, L^M và L^N là hai alen của gen quy định phenotyp nhóm máu M và N.

Trong dãy nhiều alen của cùng một gen thì chữ cái in hoa được dùng để ký hiệu cho alen trội hơn tất cả các alen khác, còn alen lặn so với tất cả các alen khác ký hiệu bằng chữ thường, các alen khác thuộc giữa hai thái cực này được ký hiệu bằng chữ thường kèm theo ký hiệu phụ (ở trên cao) phù hợp. Ví dụ màu mắt ruồi giấm *Drosophila melanogaster* được quy định bởi hàng loạt alen gây nên các phenotyp biến đổi từ kiểu dại màu đỏ, qua các dạng màu khác tới dạng màu trắng trong đó trắng là lặn so với mọi dạng khác, được ký hiệu là w (white), kiểu dại đỏ ký hiệu là W, các alen trong dãy được ký hiệu lần lượt là $W > w^{co} > w^{bl} > w^e > w^{ch} > w^a > w^h > w^{bf} > w^t > w^p > w^i > w$.

2. CÁC NGUYÊN LÝ DI TRUYỀN CỦA MENDEL

2.1. Thực nghiệm của Mendel về lai một tính và hai định luật Mendel I và II

2.1.1. Thực nghiệm

Mendel sử dụng các dòng đậu Hà Lan thuần chủng để lai thực nghiệm, quan sát từng trạng thái tính trạng trong mỗi thực nghiệm để theo dõi sự di truyền từ thế hệ bố mẹ tới các thế hệ con cháu về từng cặp trạng thái tính trạng tương phản.

Phương pháp lai hai cây bố mẹ chỉ khác nhau về một tính trạng hoặc chỉ so sánh về một tính trạng gọi là lai một tính.

Mendel đã nghiên cứu lai một tính về 7 loại tính trạng khác nhau và thu được các kết quả như sau:

Bảng 2.1. Kết quả lai một tính của Mendel

Loại tính trạng nghiên cứu	P	F ₁	F ₂ (Số lượng)			F ₂ (%)	
			Tổng số	Trội	Lặn	Trội	Lặn
Ch.cao thân	Thân cao x thân thấp	Tất cả cao	1064	787 cao	277 thấp	74,0	26,0
Màu hạt	Hạt vàng x hạt lục	Tất cả vàng	8023	6022 vàng	2001 lục	75,1	24,9
Dạng hạt	Hạt trơn x hạt nhăn	Tất cả trơn	7324	5474 trơn	1850 nhăn	74,7	25,3
Màu quả	Quả lục x quả vàng	Tất cả lục	580	428 lục	152 vàng	73,8	26,2
Dạng quả	Quả phồng x quả phẳng	Tất cả phồng	1181	882 phồng	299 phẳng	74,7	25,3
	Hoa tím lam x hoa	Tất cả tím		705 tím			

Màu hoa	trắng	lam	929	lam	224 trắng	75,9	24,1
Vị trí hoa	Hoa mọc nách x mọc đỉnh	Tất cả mọc nách	858	651 mọc nách	207 mọc đỉnh	75,9	24,1

2.1.2. Định luật Mendel I (định luật đồng tính - định luật tính trội)

Mendel nhận thấy ở F_1 tất cả có phenotyp giống nhau và giống với một trong hai dạng bố mẹ, nên Mendel gọi tính trạng được biểu hiện ở F_1 là tính trạng trội, tính trạng không được biểu hiện ở F_1 là tính trạng lặn. Từ nhận xét của Mendel là khi lai hai cơ thể thuần chủng khác nhau về một cặp tính trạng tương phản thì tất cả con lai F_1 đều giống nhau và đều mang tính trạng trội nên hiện tượng này được gọi là định luật đồng tính hay định luật tính trội hay định luật thứ nhất của Mendel.

2.1.3. Định luật Mendel II (định luật phân tính)

Khi cho F_1 tự thụ phấn Mendel nhận thấy trong mọi thực nghiệm thì F_2 đều phân tính với tỷ lệ xấp xỉ 3 trội : 1 lặn (bảng trên). Cho các cây F_2 tự thụ phấn, Mendel thấy cây F_2 mang tính trạng lặn thì cho F_3 tất cả đều chỉ biểu hiện tính trạng lặn, thuần chủng. Trong số các cây mang tính trạng trội F_2 có 1/3 số cây khi tự thụ phấn cho F_3 đều chỉ biểu hiện tính trạng trội - nghĩa là thuần chủng; 2/3 số cây còn lại khi tự thụ phấn lại cho F_3 phân tính theo tỷ lệ 3 trội : 1 lặn, nghĩa là những cây không thuần chủng. Như vậy ở F_2 có 1/4 số cây trội thuần chủng; 2/4 số cây trội không thuần chủng; 1/4 số cây lặn thuần chủng.

2.1.4. Cơ sở tế bào học của phép lai một tính

Với các kiến thức di truyền tế bào học ngày nay, người ta biết rằng trong tế bào $2n$ của cơ thể các nhiễm sắc thể tồn tại theo từng cặp tương đồng, giống hệt nhau về hình dạng, kích thước và cách sắp xếp gen. Trên mỗi cặp nhiễm sắc thể tương đồng chứa các gen tồn tại theo từng cặp gen alen thuộc các locus giống nhau, tương ứng với nhau từng đôi một. Trong di truyền đơn gen thì từng đôi hai alen tương tác với nhau để quyết định một tính chất của cơ thể. Khi phân bào giảm nhiễm để hình thành giao tử, các nhiễm sắc thể của cặp tương đồng phân ly nhau, mỗi nhiễm sắc thể hoặc nguồn bố hoặc nguồn mẹ phân ly đi về một giao tử, nên từng cặp gen alen nằm trên cặp nhiễm sắc thể ấy cũng phân ly nhau, mỗi alen đi về một giao tử. Khi hai giao tử đực và cái phối hợp với nhau tạo thành hợp tử thì hai nhiễm sắc thể tương đồng lại tồn tại thành đôi ở hợp tử, và do đó hai alen của mỗi gen trên cặp nhiễm sắc thể ấy cũng lại tồn tại thành cặp alen ở hợp tử, trong đó một có nguồn gốc từ bố, một có nguồn gốc từ mẹ.

Nguyên lý phân ly của Mendel được bổ sung hoàn chỉnh, giải thích bằng cơ sở di truyền tế bào học, còn gọi là nguyên lý phân ly gen như sau: "Trong cơ thể các gen tồn tại theo từng đôi (nhưng riêng rẽ, không hòa lẫn vào nhau). Khi tạo thành giao tử, từng cặp gen phân ly nhau và mỗi gen đi vào một giao tử. Sau khi hai giao tử giao phối với nhau thì các gen alen lại phối hợp với nhau thành từng đôi ở hợp tử".

2.2. Thực nghiệm của Mendel về lai hai tính - Định luật Mendel III

2.2.1. Thí nghiệm

Mendel tiến hành thực nghiệm lai các cây đậu thuần chủng về hai tính trạng khác nhau (gọi là lai hai tính) để xem xét sự liên quan và sự hoạt động của hai cặp nhân tố di truyền khác nhau trong cùng một phép lai (các cặp gen quy định các cặp tính trạng mà Mendel chọn để nghiên cứu nằm trên những cặp nhiễm sắc thể tương đồng khác nhau).

Mendel lai cây đậu thuần chủng có hạt trơn, vàng với cây thuần chủng có hạt nhăn, lục. Kết quả ở

thế hệ F_1 tất cả các cây đều đồng tính có hạt trơn, vàng. Dem gieo các hạt ở thế hệ F_1 và để các cây F_1 tự thụ phấn, ở thế hệ F_2 thu được 4 loại hạt: trong tổng số 556 hạt F_2 có 315 hạt trơn, vàng, 108 hạt trơn, lục, 101 hạt nhăn, vàng, và 32 hạt nhăn, lục. Khi rút gọn thành các số nhỏ, kết quả rất gần với tỷ lệ 9:3:3:1 theo dự đoán lý thuyết của Mendel mà ông nhận ra là một nhị thức bậc hai là $(3 + 1)^2$.

Kết quả lai hai tính giống như dự đoán của Mendel là sự tổng hợp của hai phép lai một tính được tiến hành trong cùng một cá thể ở cùng thời gian và hai cặp nhân tố di truyền đã di truyền hoàn toàn độc lập với nhau. ở thế hệ F_2 tỷ lệ giữa trơn với nhăn là 3:1 và giữa vàng với lục cũng là 3:1. Kết quả đó cho thấy cặp nhân tố di truyền này đã tổ hợp độc lập đối với cặp nhân tố di truyền kia:

$$(3 : 1) \times (3 : 1) = 9 : 3 : 3 : 1.$$

Mendel khái quát thành nhận định là "Các cặp nhân tố di truyền khác nhau của cơ thể bố mẹ có sự tổ hợp độc lập, cặp nọ không phụ thuộc vào cặp kia ở cơ thể con".

2.2.2. Định luật Mendel III

Qua lai hai tính về sau được khái quát hóa và bổ sung thêm, xây dựng thành định luật Mendel thứ ba còn gọi là định luật phân ly độc lập, hay gọi là nguyên lý tổ hợp độc lập: "Nếu mỗi cặp gen quy định một loại tính trạng nằm trong hai cặp nhiễm sắc thể khác nhau, khi phân bào giảm nhiễm sẽ phân ly một cách độc lập, đời này không phụ thuộc đời kia, và từng gen sẽ đi vào tập hợp ở các giao tử một cách ngẫu nhiên".

Nguyên lý tổ hợp độc lập được ứng dụng trong thực tế tập giao động vật và thực vật để phối hợp các tính trạng mong muốn và duy trì các tính trạng đó trong cùng một cá thể.

2.2.3. Cơ sở tế bào học của phép lai hai tính

Thực nghiệm lai hai tính của Mendel sau này đã được giải thích bằng các kiến thức di truyền tế bào học như sau:

Một cặp gen alen N, n quy định cặp tính trạng độ trơn, nhăn của vỏ hạt, một cặp gen alen khác là L, l quy định màu hạt vàng, lục. Hai cặp gen không alen này nằm trên hai cặp nhiễm sắc thể tương đồng khác nhau. Thế hệ P thuần chủng nên cơ thể trơn, vàng NNLL chỉ có một loại giao tử chứa các gen NL, cơ thể nnll cũng chỉ có một loại giao tử chứa nl. Do đó F_1 chỉ có một genotyp duy nhất là NnLl, do có mặt cả hai gen trội N, L nên phenotyp đồng tính trơn, vàng.

Khi F_1 giảm phân tạo giao tử, một cặp nhiễm sắc thể tương đồng này mang N và n phân ly nhau, một cặp nhiễm sắc thể tương đồng kia mang L và l cũng phân ly nhau. Chúng phân ly một cách độc lập nên các gen không alen trên các nhiễm sắc thể khác nhau này đã tổ hợp tự do được với nhau. Do đó đã tạo được 4 loại tinh trùng mang các tổ hợp gen NL, Nl, nL và nl với tỷ lệ bằng nhau và cũng tạo được 4 loại trứng với tổ hợp gen như vậy.

Khi thụ tinh ngẫu nhiên 4 loại tinh trùng và 4 loại trứng tạo 16 tổ hợp các hợp tử, trong đó có những tổ hợp có genotyp giống nhau nên tổng số ở F_2 gồm 9 genotyp và 4 phenotyp như sau:

$$(1NN : 2Nn : 1nn) \times (1LL : 2Ll : 1ll) = 1NNLL : 2NNLl : 2NnLL : 4NnLl : 1NNll :$$

$$2Nnll : 1nnLL : 2nnLl : 1nnll.$$

$$(3 \text{ vàng} : 1 \text{ lục}) \times (3 \text{ trơn} : 1 \text{ nhăn}) = 9 \text{ vàng trơn} : 3 \text{ vàng nhăn} : 3 \text{ lục trơn} : 1 \text{ lục nhăn}.$$

2.3. Lai đa tính - Sự phân ly ba tính trạng và nhiều tính trạng

Trong phát triển lý thuyết về lai, Mendel không chỉ phân tích trường hợp lai hai tính trạng mà ông

đã làm các thí nghiệm về lai ba tính về các tính trạng hình dạng hạt, màu sắc lá mầm và màu sắc vỏ hạt.

Dựa trên các kết quả đã thu được về lai nhiều cặp tính trạng đồng thời, Mendel khái quát hóa về n cặp nhân tố di truyền chi phối n cặp tính trạng di truyền độc lập, sau này được các nhà nghiên cứu khác bổ sung hoàn chỉnh gọi là định luật tổ hợp: “Với n cặp gen không alen nằm trên n cặp nhiễm sắc thể tương đồng khác nhau phân ly độc lập có khả năng tạo ra 2^n kiểu giao tử F_1 , 4^n số tổ hợp giao tử tạo F_2 , 2^n phenotyp F_2 với sự phân ly về phenotyp là $(3+1)^n$, số loại genotyp F_2 là 3^n với sự phân ly về genotyp là $(1+2+1)^n$ ”.

2.4. Sự phát hiện lại các định luật Mendel và các bổ sung lý thuyết di truyền học hiện đại sau Mendel

Năm 1866 công trình của Mendel được in trong kỷ yếu của Hội các nhà tự nhiên học ở Bruno. Tuy nhiên, phát minh của Mendel không được người đương thời hiểu thấu.

Năm 1900 đã xảy ra việc phát hiện lại lần thứ hai lý luận của Mendel, mở đầu cho sự phát triển của di truyền học. Sau đó, đã xuất hiện nhiều nghiên cứu di truyền ở nhiều đối tượng rất khác nhau và cả các nghiên cứu di truyền người đã tìm ra các quy luật di truyền học sau Mendel, bổ sung cho các định luật Mendel. Đối với gen trong nhân trên nhiễm sắc thể, sự di truyền một tính trạng nào đó của mỗi cá thể cho các con cháu trong quần thể có nhiều kiểu cơ chế di truyền khác nhau: di truyền đơn gen; ở loại gen có tính đa hiệu thì một gen tác động chi phối sự biểu hiện nhiều mặt ở phenotyp; hai hoặc nhiều cặp gen không alen cùng tác động lên sự di truyền và biểu hiện của một tính trạng nào đó. Các tính trạng có thể do các gen thuộc nhóm gen liên kết nhiễm sắc thể thường hoặc thuộc nhóm gen liên kết nhiễm sắc thể giới. Sự di truyền tính trạng cũng có thể thuộc loại di truyền đa gen, đa nhân tố, ngoài ra còn có sự di truyền tế bào chất.

Mỗi kiểu cơ chế di truyền có những đặc điểm tính chất riêng, sẽ được xem xét lần lượt trong các phần tiếp theo.

3. DI TRUYỀN ĐƠN GEN

3.1. Khái niệm

Di truyền đơn gen là kiểu di truyền mà sự quy định một tính trạng nào đó của từng cơ thể và của các cá thể trong quần thể chỉ do các alen của một gen, thuộc cùng một locus tương tác và liên quan ảnh hưởng nhau để quy định sự biểu hiện của các trạng thái tính trạng. Trong mỗi cơ thể lưỡng bội thì chúng tồn tại thành đôi, hai alen của gen tương tác nhau để quy định phenotyp.

Di truyền đơn gen dựa trên cơ sở của sự phân ly và tổ hợp của cặp gen alen trên cặp nhiễm sắc thể tương đồng trong giảm phân và trong thụ tinh, giống như kiểu di truyền Mendel, dựa trên lý thuyết toán học có thể tính toán được tần số của genotyp và phenotyp bằng hệ thức toán học nên còn gọi là “di truyền kiểu Mendel” hay “di truyền đơn giản theo hệ thức”.

Di truyền đơn gen gồm di truyền hai alen và di truyền nhiều alen.

3.2. Di truyền hai alen

3.2.1. Khái niệm

Di truyền hai alen là dạng di truyền đơn gen trong đó quyết định sự biểu hiện của một tính trạng nào đó của mỗi cá thể và của các cá thể trong toàn quần thể chỉ do hai alen của gen chi phối.

3.2.2. Tương quan trội lặn hoàn toàn

Tương quan trội lặn hoàn toàn là dạng tương quan giữa gen trội A và gen lặn a mà ở thể dị hợp Aa chỉ có trạng thái tính trạng do alen trội A quy định được thể hiện còn trạng thái tính trạng do alen lặn a quy định bị lấn át đi không thể hiện ra phenotyp.

Như vậy các cơ thể có genotyp đồng hợp và dị hợp về gen trội (AA và Aa) đều có phenotyp của A giống nhau. Ví dụ trong lai một tính của Mendel thì các cơ thể TT và Tt đều có phenotyp là thân cao vì T trội hoàn toàn so với t.

Các nghiên cứu sau này cho thấy rằng cái gọi là “gen lặn” trong thực tế có thể không phải hoàn toàn là như thế. Nói một cách chính xác hơn thì alen lặn gây nên sự biểu hiện khó thấy được hoặc không thấy được về phenotyp. Dù trong trường hợp về bề ngoài không thấy được ở các biểu hiện phenotyp thì cũng có thể phát hiện được nhờ những phương pháp hóa sinh đặc biệt là các biểu hiện của gen ở mức độ phân tử.

Ngoài ra cùng một gen như nhau nhưng trong các điều kiện này của môi trường có thể hoạt động như là gen trội và trong các điều kiện khác của môi trường có thể hoạt động như là một gen lặn.

3.2.3. Tương quan trội không hoàn toàn - Sự biểu hiện trung gian

Có loại tính trạng mà các alen quy định các trạng thái của tính trạng là trội không hoàn toàn nên ở cơ thể dị hợp tử, kết quả tương tác của hai alen tạo nên phenotyp có dạng trung gian giữa hai trạng thái tính trạng do alen này và alen kia quy định vì mỗi trạng thái tính trạng do từng alen quy định đều được biểu hiện một phần ở cơ thể dị hợp tử.

Ví dụ màu hoa của cây hoa mồm chó *Antirrhinum* sp. di truyền theo kiểu trội không hoàn toàn nên cây có genotyp AA có hoa màu đỏ, cây aa có hoa màu trắng còn cây Aa có hoa màu hồng là màu trung gian giữa đỏ và trắng vì alen A quy định sự tạo ra sắc tố đỏ và alen a quy định sự tạo ra sắc tố trắng cùng hoạt động nên ở cây Aa, cả hai loại sắc tố đỏ và trắng cùng được tạo ra làm hoa có màu hồng.

3.2.4. Tương quan đồng trội

Trong tương quan đồng trội thì cả hai alen cùng trội tương đương nhau nên ở cơ thể dị hợp tử có phenotyp biểu hiện cả hai trạng thái tính trạng mà hai alen đó quy định một cách hoàn toàn và ngang nhau chứ không biểu hiện tính chất trung gian.

Ví dụ ở hệ nhóm máu MN, alen L^M quy định hồng cầu có kháng nguyên M, bị ngưng kết bởi kháng thể kháng M; alen L^N quy định hồng cầu có kháng nguyên N, bị ngưng kết bởi kháng thể kháng N. Người dị hợp tử genotyp $L^M L^N$ thì ở phenotyp hồng cầu có cả hai loại kháng nguyên M và N, bị ngưng kết bởi cả hai loại kháng thể kháng M và kháng N. Đặc điểm di truyền hai alen được minh họa ở phần di truyền y học.

3.3. Di truyền nhiều alen

3.3.1. Khái niệm

Di truyền nhiều alen là dạng di truyền đơn gen trong đó sự quy định một tính trạng nào đó trong quần thể là do nhiều alen của một gen chi phối, tạo thành nhiều trạng thái tính trạng khác nhau ở phenotyp tương ứng với các alen đó, nhưng trong mỗi cơ thể lưỡng bội thì chỉ có thể có hai trong số nhiều alen đó.

3.3.2. Locus phức hợp

Trong di truyền hai alen thì locus gen chỉ có hai alen khu trú trên hai vị trí giống nhau của cặp

nhằm sắc thể tương đồng. Tuy vậy, gen trong quá trình đột biến có thể tạo thành nhiều dạng khác nhau ở các cá thể khác nhau trong quần thể, tạo thành dãy nhiều alen. Vì vậy trong di truyền nhiều alen thì locus gen có nhiều alen (> 2 alen) và mỗi cơ thể $2n$ chứa một tổ hợp gồm hai trong số nhiều alen ấy; locus gen được gọi là locus phức hợp.

3.3.3. Genotyp và phenotyp trong di truyền nhiều alen

Do có nhiều alen khác nhau nên với các cách tổ hợp khác nhau của hai trong số nhiều alen ấy mà ở cơ thể $2n$ tạo nên nhiều genotyp và có nhiều phenotyp về các loại trạng thái khác nhau của tính trạng tương ứng với các tổ hợp genotyp khác nhau của các alen ấy.

Số loại genotyp trong dãy nhiều alen được tính bằng các công thức sau:

$$\text{Tổng số genotyp} = \frac{n(n+1)}{2}$$

$$\text{Số genotyp đồng hợp tử} = n$$

$$\text{Số genotyp dị hợp tử} = \frac{n(n-1)}{2}$$

n là số lượng các loại alen trong dãy alen của gen

Di truyền nhóm máu ABO (ABH) là di truyền nhiều alen, được minh họa ở phần di truyền y học.

4. SỰ TƯƠNG TÁC GIỮA HAI GEN KHÔNG ALEN PHÂN LY ĐỘC LẬP CÙNG QUY ĐỊNH MỘT TÍNH TRẠNG VÀ CÁC BIẾN ĐỔI CÔNG THỨC PHÂN LY MENDEL

Nếu hai gen không alen tương tác nằm trên hai cặp nhiễm sắc thể khác nhau thì chúng phân ly độc lập, tổ hợp tự do với nhau tạo tỷ lệ kiểu gen ở F_2 vẫn là $9A-B- : 3A-bb : 3aaB- : 1aabb$ nhưng do hai gen không alen này cùng tương tác nhau chỉ quy định một tính trạng nên số loại phenotyp ở F_2 thường là ít hơn 4 và là các biến dạng của tỷ lệ $9:3:3:1$.

Hiện tượng liên hợp giữa hai gen không alen cùng quy định một tính trạng tạo bốn loại phenotyp ở F_2 với tỷ lệ $9:3:3:1$ về một tính trạng.

Số gen tương tác là ba gen không alen phân ly độc lập sẽ tạo F_2 nhiều hơn tám kiểu hình với tỷ lệ là các biến dạng của $27: 9:9:9:3:3:3:1$. Nếu là bốn gen thì các tỷ lệ kiểu hình còn phức tạp hơn nữa.

Bảng 2.2. Các tỷ lệ phenotyp ở F_2 của các dạng tương tác 2 gen không alen

Genotyp	A – B –	A– bb	aaB –	aabb
Tỷ lệ kinh điển	9	3	3	1
Tương tác át chế của gen trội	12		3	1
Tương tác át chế của gen lặn	9	3	4	
Tương tác bổ trợ trùng hợp với hiệu quả bổ sung	9	6		1
Hiện tượng tương tác cộng gộp	15			1
Hiện tượng tương tác bổ trợ giữa hai gen trội không alen	9	7		
Hiện tượng tương tác khử của gen khử lên gen không alen	13 kể cả 1 aabb		3	

5. TÍNH ĐA HIỆU CỦA GEN

Tất cả các biểu hiện phenotyp nhiều mặt của một gen được gọi là các hiệu quả của một gen đa hiệu hay còn gọi là tính đa hiệu của gen.

Mức độ đa dạng:

Một gen có thể xác định tình trạng bề ngoài, đồng thời cũng có ảnh hưởng đến sức sống, sức sinh sản. Ví dụ gen chi phối tính trạng cánh cụt ở ruồi giấm đồng thời làm cho sức sinh sản của ruồi giấm giảm.

Có gen đa hiệu mà hiệu quả của tính trạng này là trội, hiệu quả của tính trạng khác là di truyền theo kiểu lặn. Ví dụ đột biến lông vàng ở chuột là trội nhưng có hiệu quả lặn gây chết ở trạng thái đồng hợp cả hai gen đột biến.

6. DI TRUYỀN ĐA GEN

6.1. Khái niệm về di truyền đa gen và di truyền đa nhân tố

Từ năm 1760 Kolreuter đã nêu lên kết quả lai hai chủng thuốc lá thân cao và thân thấp cho các cây F_1 có kích thước trung gian giữa bố và mẹ, các cây F_2 có nhiều kích thước chênh lệch nhau liên tục từ mức độ thấp đến mức độ cao giữa các chủng bố mẹ và ông không giải thích được kết quả.

Năm 1869, Galton đã nhận thấy nhiều tính trạng của người như: mạch đập, huyết áp, nếp vân da... và nhiều tính trạng quan trọng của sinh vật như năng suất sữa của bò, khả năng đẻ trứng của gà, khả năng cho len của cừu... có tính biến thiên liên tục từ thái cực này tới thái cực kia và cho rằng chúng do nhiều nhân tố di truyền chi phối.

Tới năm 1908 Nillson Ehle và East đưa ra giả thuyết di truyền đa gen đối với một số tính trạng số lượng, cho rằng ở một số tính trạng thì sự biểu hiện ra phenotyp phụ thuộc vào nhiều gen, sự phát triển của tính trạng là do hoạt động tích góp của nhiều gen tác động theo cùng một hướng.

Nhiều đóng góp cơ bản của các nhà khoa học sau đó đưa đến quan niệm hoàn chỉnh về sự di truyền đa gen đối với các tính trạng số lượng.

Từ các hiểu biết trên, rút ra định nghĩa "Di truyền đa gen là dạng di truyền mà sự biểu hiện của tính trạng bị kiểm soát bởi nhiều gen không alen, trong đó mỗi gen thành viên chỉ có một tác động nhỏ lên phenotyp không đủ để tạo nên một thay đổi thấy được ở phenotyp, nhưng tổng một hệ thống nhiều gen thành viên cùng tác động theo một hướng có thể gây nên những thay đổi về lượng có thể thấy được ở phenotyp".

Phenotyp trong di truyền đa gen do kết quả tác động của tổng thể nhiều gen thành viên tương tác nhau, đồng thời chịu nhiều ảnh hưởng của sự tương tác giữa genotyp với nhiều nhân tố môi trường khác nhau gọi là di truyền đa nhân tố. Vì vậy, trong phần lớn các trường hợp di truyền đa gen và di truyền đa nhân tố được dùng với ý nghĩa trùng nhau.

6.2. Đặc điểm

- Đại đa số các loại tính trạng di truyền đa gen là các tính trạng có tính chất định lượng, nghĩa là có thể đo lường được (tính trạng số lượng). Tính trạng này bị kiểm soát bởi nhiều locus gen khác nhau.

- Cùng với các đa gen thuộc các locus khác nhau thì hiện tượng dãy đa alen của từng gen trong nhiều gen ấy cũng có vai trò tạo ra biến thiên tính trạng. Sự thay đổi alen của từng gen thành viên trong các tổ hợp gen khác nhau thường có hiệu quả phenotyp nhỏ, và các phenotyp giống nhau hoặc tương tự nhau có thể là do kết quả tác động của nhiều loại genotyp khác nhau.

- Sự biểu hiện ra phenotyp của tính trạng có độ biến thiên rất lớn do các ảnh hưởng của các nhân tố môi trường.

- Trong một quần thể thì tính trạng thường biểu hiện theo kiểu phân bố biến thiên liên tục. Nếu quần thể đồng nhất, sự biến thiên có đường phân phối chuẩn. Ví dụ chiều cao đứng của các cá thể trong một quần thể người trưởng thành có kích thước biến thiên liên tục từ 1,42m đến 1,75m, số trung bình là 1,60m.

- Một số tính trạng đa nhân tố thì riêng một yếu tố không quyết định được sự biểu hiện của tính trạng. Vì vậy không thể tính toán khả năng biểu hiện tính trạng của các thể hệ con cháu trong các phép lai như các tính trạng di truyền hai alen, mà chỉ có thể đánh giá qua các con số điều tra trong quần thể, là các con số kinh nghiệm qua thống kê.

Ví dụ minh họa về sự di truyền màu da do hệ thống nhiều gen kiểm soát ở loài người:

Di truyền màu da ở người được đánh giá có từ 2 đến 20 đôi gen, Davenport ở Jamaica đã phân tích hai đôi gen chủ yếu chi phối màu da và ông đã lập một biểu mẫu phân định màu da dựa vào tỷ lệ % sắc tố.

7. SỰ LIÊN KẾT GEN VÀ SỰ TÁI TỔ HỢP CÁC GEN TRONG NHÓM GEN LIÊN KẾT

7.1. Sự liên kết gen

Nghiên cứu di truyền của bất kỳ loài thực vật hay động vật nào, người ta đều thấy mỗi loài sinh vật ấy có hàng ngàn, hàng vạn gen. Nhưng người ta biết chắc là số lượng các cặp nhiễm sắc thể ở các loài là không nhiều. Ở ngô đã nghiên cứu hơn 500 gen, nhưng số lượng nhiễm sắc thể là 10 cặp. Ở ruồi giấm hơn 1000 gen, nhưng số lượng nhiễm sắc thể là 4 cặp, ở người hơn 30.000 gen, nhưng số lượng nhiễm sắc thể là 23 cặp... Nếu các gen nằm trong nhiễm sắc thể thì mỗi cặp nhiễm sắc thể sẽ phải mang một nhóm gen hoàn chỉnh, và các gen nằm trong một nhiễm sắc thể phải hợp thành một nhóm liên kết.

Bateson và Punnet (1906) đã phát hiện hiện tượng liên kết gen lần đầu tiên. Trong thí nghiệm lai giữa các thứ đậu thơm với nhau các tác giả nhận thấy sự phân ly khi lai hai tính khác với kết quả thí nghiệm của Mendel, chúng không di truyền độc lập nhau mà có khuynh hướng di truyền liên kết cùng với nhau qua nhiều thế hệ.

Các công trình nghiên cứu của Morgan và cộng sự bắt đầu từ 1910, bằng thực nghiệm đã phát hiện sự tồn tại của các nhóm gen liên kết ứng với các nhiễm sắc thể nhất định. Qua đó đã chứng minh rằng sự liên kết của các gen trong phạm vi từng nhiễm sắc thể không có ý nghĩa tuyệt đối. Các gen nằm trong các đoạn khác nhau của các nhiễm sắc thể khác nguồn, có thể phân ly và kết hợp nhau bằng cách tái tổ hợp bên trong từng cặp nhiễm sắc thể tương đồng. Nghiên cứu chi tiết các quá trình này có thể phát hiện được các nguyên tắc tổ chức di truyền của nhiễm sắc thể.

Nguyên nhân dẫn đến sự liên kết không hoàn toàn là do hiện tượng tiếp hợp, bắt chéo của cặp nhiễm sắc thể tương đồng khi phân ly ở nhiều điểm sẽ hình thành những dạng có hình chữ X, do đó hiện tượng này được gọi là "bắt chéo". Morgan giải thích những số liệu của ông bằng sự liên kết không hoàn toàn ở ruồi giấm, đã nêu lên giả thuyết rằng khi bắt chéo có sự trao đổi giữa các đoạn của các nhiễm sắc thể khác nguồn, mang theo các gen trên nó, dẫn tới hiện tượng hoán vị gen.

Nghiên cứu sự di truyền liên kết của các gen cho kết quả khẳng định rằng từng nhóm gen liên kết ứng với từng cặp nhiễm sắc thể nhất định. Mỗi liên hệ giữa nhóm gen liên kết với từng nhiễm sắc thể được phát hiện đầu tiên ở ruồi giấm. Các thí nghiệm tỷ mỉ phân tích sự bắt chéo ở ruồi giấm, năm 1919

Sturtevant đã nêu ra các gen trong nhiễm sắc thể được phân bố theo chiều dài và đã chứng minh bằng sự tồn tại các quy luật chặt chẽ khi phân tích liên tiếp sự liên kết không hoàn toàn trong hệ thống các gen thuộc cùng một nhóm liên kết. Ví dụ sự nghiên cứu mối quan hệ tương hỗ giữa ba gen trong trường hợp bất chéo, đã phát hiện rằng, nếu tần số bất chéo (phần trăm) giữa gen A và B bằng một đại lượng M nào đó, và giữa gen A và C tần số là bằng đại lượng H, thì tần số bất chéo giữa gen B và C hoặc bằng $M + H$ hoặc $M - H$. Quy luật này áp dụng cho mọi gen trong từng nhóm liên kết. Rõ ràng chỉ có thể giải thích được hiện tượng này nếu thừa nhận sự phân bố theo chiều dài của các gen trong nhiễm sắc thể.

Trên cơ sở các thí nghiệm, ngày nay đối với nhiều sinh vật người ta thiết lập được các bản đồ đường thẳng của các nhiễm sắc thể.

7.2. Nguyên tắc lập bản đồ di truyền

Bản đồ di truyền là sơ đồ vị trí tương đối của các gen trên nhiễm sắc thể của toàn thể bộ nhiễm sắc thể đơn bội của sinh vật. Ở những loài có cặp nhiễm sắc thể giới có thành phần tổ hợp gen trên nhiễm sắc thể X khác với ở Y thì bản đồ di truyền được lập cho cả hai nhiễm sắc thể X và Y.

Xác định nhóm gen liên kết bằng lai hai tính trạng: nếu tỷ lệ phân ly nhận được ở F_2 là 9:3:3:1 thì hai gen này nằm trên hai nhiễm sắc thể khác nhau, ngược lại nếu thấy tỷ lệ đó là 3:1 hoặc gần giống 3:1 (vì còn có thể xảy ra trao đổi chéo) thì có thể kết luận hai gen đang quan tâm cùng nằm trên một nhiễm sắc thể. Trong thực tế, thay vì phép lai trên người ta thường dùng phép lai phân tích, lai F_1 của phép lai hai tính với cơ thể đồng hợp lặn về hai gen nghiên cứu. Nếu ở thế hệ con tỷ lệ phân ly phenotyp là 1:1:1:1 thì hai gen nằm trên hai nhiễm sắc thể khác nhau, nếu phân ly theo tỷ lệ 1:1 hoặc hai phenotyp với tỷ lệ lớn và bằng nhau, hai phenotyp với tỷ lệ nhỏ và bằng nhau thì hai gen tương ứng nằm trên cùng một nhiễm sắc thể.

Xác định vị trí các gen trên nhiễm sắc thể dựa trên khoảng cách giữa chúng. Khoảng cách giữa hai gen tỷ lệ thuận với tần số trao đổi chéo. Người ta đã dùng tần số trao đổi chéo để đo khoảng cách giữa các gen. 1% trao đổi chéo được coi là một đơn vị chiều dài của bản đồ di truyền và được gọi là centi - Morgan (cM).

Mỗi cặp nhiễm sắc thể trong giảm phân có thể xuất hiện không chỉ trường hợp bất chéo một lần, mà còn những hiện tượng bất chéo hai lần, bất chéo ba lần và nhiều hơn nữa. Trong bốn chromatid của cặp nhiễm sắc thể kép có thể có sự trao đổi nhiều lần dẫn đến bất chéo không phải chỉ ở hai mà còn ở ba hoặc tất cả bốn chromatid.

7.3. Hiện tượng bất chéo soma

Qua thí nghiệm về ruồi giấm, Steri đã chứng minh rằng, hiện tượng bất chéo không phải chỉ xảy ra trong quá trình giảm phân, khi phát triển các tế bào phôi, mà còn trong nhiều trường hợp khác và cả trong tế bào soma bình thường. Ông đã nêu lên hiện tượng bất chéo soma. Pontecvo phát hiện rằng hiện tượng bất chéo soma có thể xảy ra trong các nhân lưỡng bội của hệ sợi các loài nấm mốc *Aspergillus* khác nhau. Thực tế hiện tượng bất chéo soma có nhiều, nhưng thường người ta không phát hiện thấy vì nó ít khi biểu hiện ra kiểu hình.

Từ những năm 70 của thế kỷ XX xuất hiện phương pháp lai tế bào soma. Với các tế bào lai người ta khảo sát được nhiều tính chất sinh học của tế bào, sự hoạt động của các gen, sự khu trú của gen trên các nhiễm sắc thể xác định, ở vùng xác định, góp phần tích cực vào việc xác lập bản đồ các gen trên nhiễm sắc thể, tăng tốc độ rút ngắn thời gian rất nhiều lần so với trước đây và góp phần đáng kể vào việc xây

dựng bản đồ di truyền của loài người.

Liên kết gen là hiện tượng phổ biến với tất cả mọi sinh vật.

Sự phát hiện liên kết gen và sự di truyền đồng thời của các gen liên kết của Morgan và các cộng sự là đóng góp quan trọng trong di truyền học, với các quy luật di truyền liên kết các gen trên nhiễm sắc thể thường và nhiễm sắc thể giới tính X và Y đã bổ sung các quy luật di truyền cơ bản của Mendel, giải thích được sự di truyền các tính trạng liên kết hoàn toàn, liên kết không hoàn toàn và liên kết giới phổ biến ở các loài sinh vật và ở loài người.

8. SỰ DI TRUYỀN GIỚI TÍNH

Một trong những vấn đề quan trọng nhất trong sinh học từ trước đến nay là sinh vật ra đời với giới khác nhau. Đó là sự tiến hóa của sinh giới để tăng khả năng thích ứng di truyền.

Có nhiều cơ chế khác nhau để xác định sự hình thành giới tính và tỷ lệ giới đực/cái, trong đó hầu hết các cơ chế do sự kiểm soát của các nhân tố di truyền, một số rất ít loài là do môi trường.

8.1. Các cơ chế xác định giới tính do nhiễm sắc thể giới

8.1.1. Nhiễm sắc thể giới

Henking - một nhà sinh học Đức (1891) đã phát hiện thấy một cấu trúc đặc biệt của nhân tế bào dòng tinh ở một số côn trùng. Khoảng 1/2 số tế bào mang cấu trúc đó và một nửa còn lại không có, ông ký hiệu cấu trúc đó là vật thể “X” và đề ra rằng có hai loại tinh trùng khác nhau do có hoặc không có vật thể đó.

Năm 1902 Chung. M.C quan sát thấy tế bào của châu chấu cái có số lượng nhiễm sắc thể khác với tế bào của châu chấu đực. Năm 1905 Wilson và Stevens nghiên cứu tế bào một số loài côn trùng đã phát hiện ra sự liên quan giữa giới tính đực và cái với nhiễm sắc thể. Các tác giả đã tìm ra hai cơ chế quy định giới tính: cơ chế XX – XO (gọi tắt là cơ chế XO) và cơ chế XX – XY (gọi tắt là cơ chế XY). Về sau nhiều nhà nghiên cứu khác cũng phát hiện ra những cơ chế như vậy, hoặc tương tự ở các động vật và thực vật khác.

Wilson (1906) đã định nghĩa: “Nhiễm sắc thể giới là một, hai hoặc một nhóm nhiều nhiễm sắc thể đặc biệt có ở trong tế bào của cơ thể Eukaryota có phân tính đực cái mà nó đại diện cho hai giới đực cái đã phân hóa”. Ở loài lưỡng tính thì karyotyp không có các nhiễm sắc thể đặc biệt này và sự hình thành các tế bào sinh dục đực và tế bào sinh dục cái được hoàn thành do quá trình phân hóa thuộc mô.

Hệ thống nhiễm sắc thể giới cơ bản được chia thành các nhóm như sau:

- Các hệ thống nhiễm sắc thể giới có ghép đôi và trao đổi chéo trong giảm phân ở giới dị giao tử. Ví dụ hệ thống XX/XY ở một số loài trên nhiễm sắc thể X và nhiễm sắc thể Y còn một số đoạn nào đó tương ứng nhau.

- Các hệ thống nhiễm sắc thể giới không có ghép đôi và trao đổi chéo trong giảm phân ở giới dị giao tử. Ví dụ hệ thống XX/XO.

- Các hệ thống nhiễm sắc thể khác biệt ở giới dị giao tử. Ví dụ hệ thống XX/XY ở một số loài trong đó nhiễm sắc thể X không có các đoạn tương ứng trên Y và ngược lại nhiễm sắc thể Y cũng không có các đoạn tương ứng trên X.

8.1.2. Các cơ chế xác định giới tính do nhiễm sắc thể giới tính

Bảng 2.3. Các cơ chế xác định giới tính do nhiễm sắc thể giới tính

--	--	--

Các cơ chế xác định giới tính dị giao tử đực				Các cơ chế xác định giới tính dị giao tử cái			
- Cơ chế XX-XY: giới đực dị giao tử XY; giới cái đồng giao tử XX. Ví dụ: người và động vật có vú, ruồi giấm				- Cơ chế ZZ-ZW: giới cái dị giao tử ZW; giới đực đồng giao tử ZZ. Ví dụ: bướm, tắc, một số chim và cá			
P	♂XY	x	♀XX	P	♂ZZ	x	♀ZW
Gp	50%X, 50%Y		100%X	G	100%Z		50%Z, 50%W
F ₁	1X	:	1XY	F ₁	1ZZ	:	1ZW
	1 cái	:	1 đực		1 đực	:	1 cái
- Cơ chế XX-XO: giới đực dị giao tử XO; giới cái đồng giao tử XX. Ví dụ: các loài thuộc bộ Hemiptera và Orthoptera như rệp, châu chấu.				- Cơ chế ZZ-ZO: giới cái dị giao tử ZO; giới đực đồng giao tử ZZ. Ví dụ bộ nhện			
P	♂XO	x	♀XX	P	♀ZO	x	♂ZZ
Gp	50%X, 50%O		100%X	Gp	50%Z, 50%O		100%Z
F ₁	1XX	:	1XO	F ₁	1ZZ	:	1ZO
	1 cái	:	1 đực		1 đực	:	1 cái

8.1.3. Cơ chế xác định giới tính ở thực vật

Ở một số loài thực vật phân tính khác gốc thì sự xác định giới tính là cây đực hay cây cái do cặp nhiễm sắc thể giới quy định.

Ở thực vật sinh sản bằng bào tử (n nhiễm sắc thể). Năm 1917 Alen nghiên cứu cây rêu *Sphaerocarpus* phát hiện thấy cây rêu đực có 7 nhiễm sắc thể thường và một nhiễm sắc thể Y nhỏ hình đầu chằm, cây rêu cái cũng có 7 nhiễm sắc thể thường và một nhiễm sắc thể X rất dài.

Ở thực vật bậc cao sinh sản bằng hạt, ví dụ cây có hoa hạt trần, hạt kín cơ thể sinh dưỡng là 2n. ở một số loài thực vật bậc cao phân tính khác gốc, ví dụ cây *Melandrium album* cũng phát hiện thấy cặp nhiễm sắc thể giới: cây cái có bộ nhiễm sắc thể 2n gồm 22A + XX còn cây đực có 22A + XY. Khi giảm phân cây đực tạo hai loại tinh trùng 11A + X và 11A + Y; cây cái tạo các noãn 11A + X. Khi thụ tinh tạo hợp tử 2n: hợp tử 22A + XX tạo hạt mọc thành cây cái; hợp tử 22A + XY tạo hạt mọc thành cây đực.

8.2. Cơ chế xác định giới tính đơn bội thể

Ở tất cả côn trùng thuộc bộ cánh màng Hymenoptera như kiến, ong mật, ong bắp chày, giới tính được xác định bằng con đường hoàn toàn khác. Trong nhóm này cũng như ở một số côn trùng khác, con cái là thể lưỡng bội, trong khi đó con đực là thể đơn bội sơ cấp. Nói cách khác, con đực mang số lượng nhiễm sắc thể ít hơn con cái một nửa. ở ong tuy số lượng bộ nhiễm sắc thể đơn bội hay lưỡng bội xác định giới tính đực hay cái nhưng điều kiện môi trường dinh dưỡng xác định tính hữu thụ hay bất thụ của ong cái 2n, chỉ ong chúa 2n được nuôi bằng thức ăn đặc biệt thì mới hữu thụ, mọi ong thợ 2n khác đều bất thụ.

Có loài có các gen đặc hiệu tham gia vào việc xác định giới tính khi con đực là đơn bội thể. Ví dụ, ở côn trùng *Habrobracon juglandis* có locus đặc hiệu trong đó có nhiều alen. Đối với loài này cũng như các loài *Habrobracon* khác, con cái phát triển từ trứng thụ tinh và vì thế mà lưỡng bội, còn con đực thì từ trứng không thụ tinh đơn bội. Con cái thường mang tính dị hợp về các gen xác định giới tính. Nhưng bằng cách giao phối thân thuộc có thể tạo được những côn trùng đồng hợp tử về một alen giới tính nào đó, các cá thể này là đực 2n. Đối với những con đực lưỡng bội này hiện tượng vô sinh thể hiện rất rõ; bởi vậy, nếu chúng có xuất hiện trong những trường hợp cá biệt thì thực tế cũng chẳng giữ vai trò gì cả. Những con đực bình thường luôn luôn phát triển từ trứng đơn bội, do đó chỉ mang một trong nhiều alen

giới tính. Những con đực khác nhau thì chứa những alen giới tính khác nhau theo kiểu này.

Cũng như ở ong, các tế bào soma của con đực *Habrobracon* là tái sinh sự lưỡng bội và vì thế chúng tương đồng theo các alen giới tính có trong trứng đơn bội không thụ tinh. Do đó, ở các loài *Habrobracon* sự đồng hợp tử về các alen giới tính dẫn đến phát triển tính đực, còn dị hợp dẫn đến phát triển tính cái.

Sự phân tích di truyền đã cho phép phát hiện được 9 alen về các yếu tố quyết định giới tính (X^a , X^b , X^c ...). Ở ong, dị hợp tử về từng cặp alen, được phát triển thành con cái (X^aX^b ; X^aX^c ; X^bX^c ...). Rõ ràng các con đực đơn bội đều là bán dị hợp tử về một alen, trong đó các con đực lưỡng bội thường là đồng hợp về một alen (X^aX^a ; X^bX^b).

Ở một số loài côn trùng khác, quá trình này lại còn khác thường hơn nữa.

8.3. Sự di truyền giới tính do hiệu quả của một gen quy định

8.3.1. Sự di truyền giới tính do một cặp alen quy định

Hiện tượng xác định giới tính do một cặp alen của một gen quy định thường gặp ở các cây phân tính khác gốc và hiếm gặp ở động vật.

Qua thực nghiệm ở một loài thực vật, Corens xác định cây đực *Bryonia dioica* là dị giao tử chứa cặp alen Mm (trong đó alen M quy định tính đực, alen m quy định tính cái). Trong nội bộ loài *B. dioica* thường xảy ra tạp giao giữa cây đực Mm x cây cái mm, nên ở đời con số lượng cây đực và cây cái bằng nhau.

Ở loài cá xương Gupi (*Lebistes reticulatus*) gen quyết định giới tính tồn tại dưới dạng hai alen ký hiệu là M (trội) và f (lặn) các cá cái là đồng hợp tử lặn ff, các cá đực là dị hợp tử Mf. Thống kê cho thấy tỷ lệ giới là cân bằng trong quần thể cá một đực : một cái.

8.3.2. Sự di truyền giới tính do nhiều alen của một gen phụ trợ quy định giới

Nhiều loài côn trùng trong bộ Hymenoptera thì sự quy định giới tính đực do tính đơn bội đực hoặc còn do cả trạng thái đồng hợp tử ở một locus gen duy nhất. Như ví dụ đã nói ở trên, ở *Habrobracon juglandis* có 9 alen ở locus gen này. Tất cả cá thể giới cái phải là dị hợp tử. Thí dụ: $s^a s^b$, $s^a s^c$, $s^d s^f$... còn cá thể đồng hợp về bất kỳ alen nào trong 9 alen này đều phát triển thành con đực tuy bất thụ. Thí dụ: $s^a s^a$, $s^c s^c$... Và con đực bình thường tất nhiên chỉ chứa một trong số các alen này ở dạng đơn trong bộ đơn bội. Thí dụ: S^a ; S^c ...

8.4. Sự xác định giới tính do môi trường

Sự phân chia tính đực, cái thường được quyết định bởi tính di truyền. Trong một số trường hợp đặc biệt sự xác định giới tính chỉ phụ thuộc các ảnh hưởng môi trường. Ví dụ ở cây *Arisaema japonica*, yếu tố quyết định giới tính là trọng lượng củ: những củ to nhất và chứa nhiều chất dinh dưỡng nhất sinh ra cây có hoa cái, trong khi đó các củ gầy chỉ cho cây có hoa đực.

9. SỰ DI TRUYỀN LIÊN KẾT GIỚI TÍNH

9.1. Nguyên lý chung

Có những tính trạng thường di truyền liên kết với giới tính là vì cặp nhiễm sắc thể giới tính chính là do một cặp nhiễm sắc thể thường phân hóa thành nên ngoài các gen quy định tính trạng giới chúng còn mang nhiều gen quy định các tính trạng thường vốn dĩ đã cùng nằm trên nhiễm sắc thể X hoặc nhiễm sắc thể Y. Trong quá trình tiến hóa, cặp nhiễm sắc thể giới đã phân hóa, một số gen bị bất hoạt ở vùng biệt hóa có thể bị thải loại ở nhiễm sắc thể này hoặc nhiễm sắc thể kia, tạo nên những vùng chứa gen

liên kết trên nhiễm sắc thể X mà không có alen tương ứng trên Y và những gen liên kết trên Y mà không có alen tương ứng trên X, và có thể cũng còn những vùng chứa các cặp gen alen cả trên X và Y (ở nhóm sinh vật mà nhiễm sắc thể giới có ghép đôi và trao đổi chéo trong giảm phân ở giới dị giao tử); hoặc không còn vùng chứa các gen thuộc những locus có cả trên X và Y (ở nhóm sinh vật mà nhiễm sắc thể giới không có ghép đôi và trao đổi chéo trong giảm phân ở giới dị giao tử). Chính vì vậy mà sự di truyền các tính trạng liên kết giới là theo các quy luật khác nhau tùy thuộc vào việc gen quy định tính trạng nằm ở vùng tương đồng hay vùng không tương đồng ở nhiễm sắc thể X hay ở Y, và tùy thuộc giới tính là dị giao tử đực hay dị giao tử cái.

9.2. Sự di truyền các tính trạng do gen liên kết nhiễm sắc thể X mà không có alen tương ứng trên nhiễm sắc thể Y quy định (hoặc do gen liên kết nhiễm sắc thể Z mà không có alen trên W quy định)

Ở giới dị giao tử đực, do nhiễm sắc thể Y không có alen tương ứng quy định nên ở giới này chỉ một alen đơn độc trên X đủ trội, dù lặn cũng đều biểu hiện tính trạng ra phenotyp (Hoặc ở giới dị giao tử cái thì là do nhiễm sắc thể W không có alen tương ứng quy định nên mọi gen trên Z ở dạng đơn đều biểu hiện ra kiểu hình. ở loài XX - XO hoặc ZZ - ZO thì ở giới XO hoặc ZO, mọi tính trạng quy định bởi gen trên X hoặc trên Z trội hoặc lặn đều biểu hiện vì không có nhiễm sắc thể thứ hai tương đồng mang gen alen).

9.3. Sự di truyền các tính trạng do gen liên kết nhiễm sắc thể Y mà không có alen tương ứng trên nhiễm sắc thể X quy định

Mặc dù trong quá trình tiến hóa, nhiễm sắc thể Y bị thoái loại một số đoạn biệt hóa, tiêu giảm một phần, nhiều loài nhiễm sắc thể Y chỉ chứa toàn chất di nhiễm sắc bất hoạt, song ở một số loài nhiễm sắc thể Y cũng có một số đoạn đặc hiệu mang một số gen quy định một số tính trạng. Do không có alen trên nhiễm sắc thể X nên các gen này chỉ lưu truyền trong giới XY và không bao giờ biểu hiện ở giới XX.

9.4. Sự di truyền các tính trạng do các gen nằm trên đoạn tương đồng của nhiễm sắc thể X và Y quy định

Người ta biết khá chính xác rằng ở loài thực vật có hoa *Melandrium album*, các nhiễm sắc thể giới tính có đoạn đặc hiệu tương đồng giữa nhiễm sắc thể X và Y. Người ta đã xác định được các gen quy định phiên lá hẹp và màu lá vàng nhạt liên kết với nhiễm sắc thể X; gen hạn chế sự phát triển đốm trên lá liên kết với nhiễm sắc thể Y, còn sự quyết định phát triển các màu khác của lá thì do gen nằm trên đoạn tương đồng của X và Y quy định. ở đoạn này có tiếp hợp trong giảm phân với sự hình thành lưỡng trị. Cặp gen alen sẽ tương tác nhau để quy định sự biểu hiện ở phenotyp. Ở loài người gần đây cũng đã xác định được một đoạn nhỏ đặc hiệu tương đồng ở vùng đầu mút của nhiễm sắc thể X và Y.

10. NHỮNG TÍNH TRẠNG BỊ HẠN CHẾ BỞI GIỚI TÍNH

Cần lưu ý rằng các tính trạng bị hạn chế bởi giới tính hoặc phụ thuộc vào giới tính không giống trường hợp các tính trạng liên kết với giới tính. Tính trạng bị hạn chế bởi giới tính là những tính trạng thường thể hiện tuyệt đối hoặc chủ yếu chỉ ở một giới mặc dù các gen quyết định tính trạng ấy có mặt ở cả hai giới. Những gen ấy có thể nằm trên bất cứ cặp nhiễm sắc thể tương đồng nào và vì vậy không phải là liên kết với nhiễm sắc thể giới tính. Chúng thường bị ảnh hưởng bởi tác động của các hormon sinh dục đực và cái. Ví dụ điển hình về tính trạng bị hạn chế bởi giới tính là khả năng sản xuất sữa của bò. Bò đực cũng mang nhiều gen quyết định lượng sữa nhiều, ít, biểu hiện ở các thể hệ sau thuộc giới cái, chứ không biểu hiện ở chính cá thể đực ấy.

11. DI TRUYỀN NGOÀI NHIỄM SẮC THỂ

11.1. Đặc điểm di truyền ngoài nhiễm sắc thể

Trong tế bào của mọi cơ thể Eukaryota, lượng ADN tập trung chủ yếu trong nhân và bộ gen trong nhân quy định sự di truyền đại đa số các tính trạng của cơ thể, tuy vậy vẫn có một số tính trạng do các yếu tố di truyền ngoài nhiễm sắc thể trong tế bào chất chi phối. Các yếu tố di truyền ngoài nhiễm sắc thể bao gồm các loại gen ngoài nhân, trong các phân tử ADN của ty thể, Lạp thể hoặc các đơn vị di truyền nằm tự do trong tế bào chất bên ngoài các bào quan, tạo thành hệ gen ngoài nhiễm sắc thể. Di truyền ngoài nhiễm sắc thể có những đặc điểm di truyền sau:

- Các khác biệt về tính trạng không có sự phân ly, hoặc phân ly không theo kiểu Mendel.
- Không có sự đổi khác về tính trạng khi thay thế nhân tế bào bằng nhân có cấu trúc di truyền khác. Có sự hằng định về tính trạng trong nhiều thế hệ lai trở lại với dòng bố.
- Lai thuận, nghịch cho các kết quả khác nhau trong các trường hợp noãn giao.
- Các đặc điểm mang tính chất di truyền theo dòng mẹ nguyên nhân là do ở nhiều sinh vật thì giao tử cái cung cấp cho hợp tử nhiều tế bào chất hơn nhiều so với giao tử đực, vì vậy các gen nằm trong tế bào chất của hợp tử là do giao tử cái truyền sang.
- Đối với các sinh vật đã xác định được các nhóm liên kết gen thì các đột biến gen tế bào chất không thể đưa vào bất cứ nhóm liên kết nào bằng các phương pháp xác định nhóm liên kết như đã mô tả ở trên.
- Có sự di truyền các nhân tố di truyền tế bào chất giống kiểu truyền nhiễm.
- Hiện tượng "hiệu quả dòng mẹ" chỉ biểu hiện kéo dài một thế hệ con giống mẹ (do sản phẩm của gen trong nhân nguồn mẹ tạo ra tích ở tế bào chất của trứng từ trước khi thụ tinh), là khác với di truyền ngoài nhiễm sắc thể về bản chất vì các gen ngoài nhiễm sắc thể di truyền qua các thế hệ.
- Các gen ngoài nhiễm sắc thể cũng có đột biến và đột biến ấy cũng di truyền được theo quy luật di truyền qua tế bào chất.

11.2. Hệ gen Lạp thể và sự di truyền hệ gen Lạp thể

11.2.1. Hệ gen Lạp thể

Lạp thể có chứa hệ gen Lạp thể ở các phân tử ADN Lạp thể xoắn kép dạng vòng. Hàm lượng khoảng 1 - 5% tổng số ADN của tế bào, khoảng 10^{-11} - 10^{-12} mg/một Lạp thể, đáp ứng cho sự mã hóa các acid amin của hàng trăm loại protein.

Hệ gen Lạp thể quy định một số tính trạng của Lạp thể như khả năng của Lạp thể trở thành màu lục và có hoạt động quang hợp bình thường, sự không có khả năng trở thành màu lục do đột biến mất màu lục.

11.2.2. Sự di truyền Lạp thể

Một nét đặc biệt của di truyền Lạp thể là sự phân ly lộn xộn của Lạp thể tạo thành những kiểu hình khác nhau trong thế hệ con, sự phân ly đó liên hệ với sự phân phối ngẫu nhiên các Lạp thể.

11.3. Hệ gen ty thể và sự di truyền ty thể

11.3.1. ADN ty thể

ADN ty thể tối thiểu cũng nhỏ hơn bộ gen của một tế bào sống tự do 10 lần (ví dụ ít hơn so với *Mycoplasma* 10 lần), là phân tử ADN xoắn kép dạng vòng khoảng 15.000 đôi base, chứa các thông tin

di truyền cho rARN, tARN của ty thể, và một số protein cần thiết cho cấu trúc và chức năng của màng ribosom, màng ty thể. Mã di truyền của ty thể không hoàn toàn giống mã di truyền phổ cập đã nêu.

11.3.2. Sự di truyền ty thể

Ty thể tự nhân đôi để di truyền qua các thế hệ. Ty thể trong tế bào phân chia ngẫu nhiên cùng với tế bào chất để di truyền qua các thế hệ cơ thể. ADN của ty thể cũng có thể đột biến và di truyền được các tính trạng đột biến qua sự tự nhân đôi của phân tử ADN vòng, tự nhân đôi của ty thể trong tế bào, di truyền theo dòng mẹ qua tế bào chất trong sinh sản hữu tính và di truyền ngẫu nhiên đều hoặc không đều theo với tế bào chất khi phân chia trong sinh sản vô tính.

11.4. Di truyền tế bào chất

Người ta đã biết những trường hợp của sự di truyền hoàn toàn theo mẹ (theo dòng mẹ), những trường hợp này không kèm theo sự phân ly tính chất và có sự liên quan với những đặc tính cơ bản của tế bào chất.

Thí dụ: ở trong tế bào chất của tế bào cơ thể và tế bào sinh dục của ruồi giấm cảm ứng với CO₂ có một loại vật thể nhỏ (tương tự virus) gọi là yếu tố sigma có khả năng di truyền tính cảm ứng. Yếu tố sigma hoạt động như là gen ngoài nhân (plasmogen).

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Giải thích một số thuật ngữ và ký hiệu thường dùng trong y học, cho ví dụ: thuật ngữ tính trạng, kiểu hình, kiểu gen, alen, giải thích các ký hiệu P, F.
2. Nêu nội dung định luật I, định luật II và định luật III của Mendel.
3. Trình bày các khái niệm di truyền đơn gen, di truyền hai alen, di truyền nhiều alen. Trình bày tương quan của các alen (trong di truyền đơn gen hai alen) trong việc hình thành tính trạng.
4. Trình bày sự tương tác giữa hai gen không alen phân ly độc lập cùng quy định một tính trạng và các biến đổi công thức phân ly Mendel.
5. Nêu khái niệm và đặc điểm của di truyền đa gen - đa nhân tố.
6. Trình bày sự liên kết gen và tái tổ hợp gen trong nhóm gen liên kết.
7. Trình bày các cơ chế xác định giới tính do nhiễm sắc thể giới.
8. Trình bày cơ chế xác định giới tính đơn bội thể, cho một ví dụ minh họa.
9. Trình bày sự di truyền giới tính do hiệu quả của một gen quy định. Mỗi hiện tượng cho một ví dụ minh họa.
10. Trình bày sự di truyền liên kết giới tính.
11. Trình bày đặc điểm của sự di truyền ngoài nhiễm sắc thể, cho một ví dụ minh họa.

Bài 9

CƠ SỞ PHÂN TỬ CỦA HIỆN TƯỢNG DI TRUYỀN

MỤC TIÊU

1. Trình bày được các bằng chứng chứng minh acid nucleic là cơ sở phân tử của hiện tượng di truyền.
2. Nêu được đặc điểm của ADN, đặc điểm của bộ gen.
3. Nêu được phân loại ARN, các loại ARN trong tế bào, đặc điểm mã di truyền.
4. Mô tả được quá trình tái bản của ADN, quá trình phiên mã và sinh tổng hợp protein.
5. Giải thích được các cơ chế điều chỉnh sinh tổng hợp protein, mô hình cấu trúc của một gen Eukaryota và trình bày các bước điều hòa biểu hiện gen ở Eukaryota.

1. NHỮNG BẰNG CHỨNG CHỨNG MINH ACID NUCLEIC LÀ CƠ SỞ VẬT CHẤT CỦA HIỆN TƯỢNG DI TRUYỀN

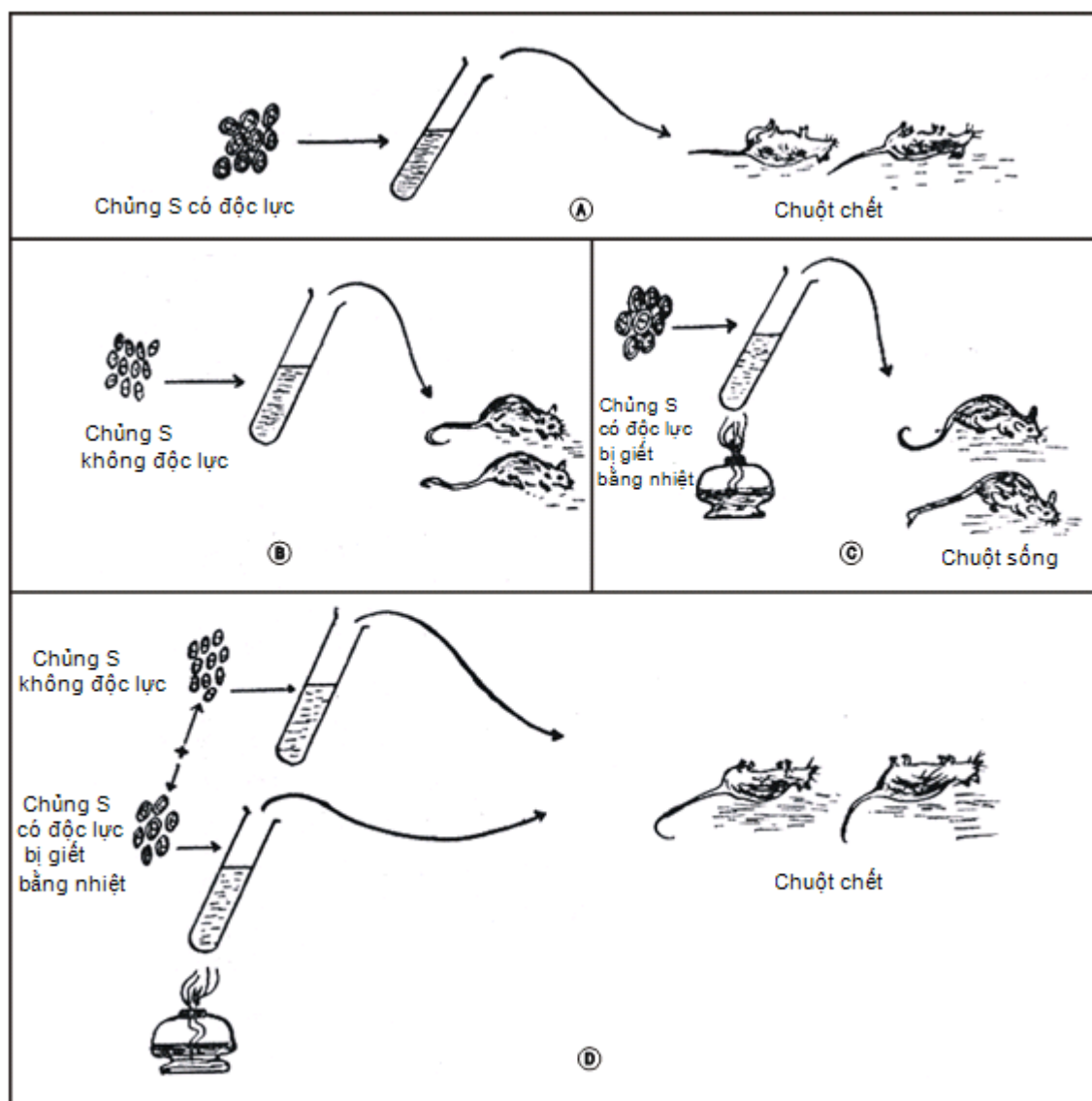
Acid nucleic được Miescher khám phá từ năm 1869 nhưng phải đến 50 năm sau, người ta mới biết được ý nghĩa sinh học, di truyền học của chúng.

Để xác định acid nucleic là cơ sở vật chất của hiện tượng di truyền, nhiều quan sát, nhiều thí nghiệm đã được thực hiện.

1.1. Hiện tượng chuyển thể ở vi khuẩn

Năm 1928 Griffith đã tiến hành nhiều thí nghiệm để xác định vai trò truyền thông tin di truyền. Ông dùng phế cầu khuẩn *Diplococcus pneumoniae* làm đối tượng nghiên cứu.

Người ta đã nuôi cấy truyền qua nhiều thế hệ thấy các vi khuẩn này vẫn giữ được tính chất của chủng S. Hiện tượng chuyển thể đã được Griffith tìm ra, tuy nhiên bản chất của chất gây chuyển thể vẫn chưa được biết.



Hình 2.3. Sơ đồ thí nghiệm của Griffith

Loại phé cầu khuẩn này có hai chủng:

- Chủng S có vỏ bọc polysaccharid, khuẩn lạc nhẵn, có độc lực.
- Chủng R không có vỏ bọc, khuẩn lạc xù xì, không độc lực.

Thí nghiệm 1: ông dùng phé cầu khuẩn chủng S có vỏ, có độc lực tiêm cho chuột, chuột bị nhiễm phé cầu khuẩn rồi chết.

Thí nghiệm 2: ông dùng phé cầu khuẩn chủng R, không có vỏ, không độc lực, tiêm cho chuột, chuột không bị nhiễm vi khuẩn, vẫn sống.

Thí nghiệm 3: ông dùng phé cầu khuẩn chủng S, đun nóng cho chết rồi tiêm cho chuột, chuột không bị nhiễm khuẩn, vẫn sống.

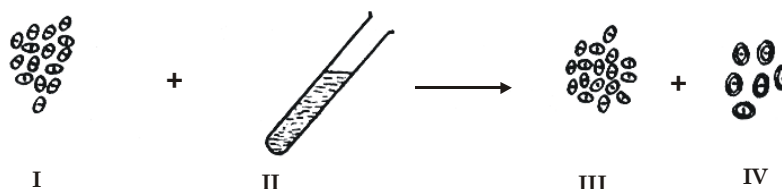
Thí nghiệm 4: ông dùng phé cầu khuẩn chủng R sống trộn với chủng S đã bị giết chết bởi nhiệt tiêm cho chuột, có một số chuột bị chết. Khi mổ xác chuột chết, ông phân lập được những phé cầu khuẩn có độc lực giống như chủng S.

Ông gọi hiện tượng chủng R chuyển thành chủng S là hiện tượng chuyển thể.

1.2. Bản chất của chất gây chuyển thể

Năm 1944, Avery và cộng sự của ông là Macleod và Mc. Carty đã chiết tách ADN làm thực nghiệm và đã chứng minh chất gây chuyển thể trong thí nghiệm của Griffith chính là ADN của chủng S. Cho vào môi trường nuôi cấy vi khuẩn chủng R và ADN tinh khiết được chiết xuất từ tế bào vi khuẩn chủng S, kết quả phân lập ở thế hệ sau thấy có hai chủng: R và S. Chủng R chiếm đa số, còn chủng S có vỏ thấy rất ít (khoảng 1/1 triệu). Phân lập và nuôi cấy chủng S thấy các thế hệ sau vẫn giữ được tính chất của chủng S. Để tăng thêm phần chính xác, người ta đã thử cho vào môi trường nuôi cấy vi khuẩn chủng R, ADN tinh khiết của chủng S và enzym deoxyribonuclease là enzym phân hủy ADN; kết quả không thấy xảy ra hiện tượng chuyển thể. Kết luận: chính ADN của chủng S là chất gây chuyển thể và ADN là vật chất mang thông tin di truyền từ chủng S sang chủng R (chuyển chủng R thành chủng S).

Nhiều thí nghiệm tương tự được lặp lại nhiều lần cho thấy hiện tượng chuyển thể của vi khuẩn vẫn xảy ra. Các kết quả chuyển thể thu được về sau cũng có tính chất bền vững như khi Griffith thí nghiệm vì nó lưu lại nhiều thế hệ sau.



Hình 2.4. Hiện tượng chuyển thể của phế cầu khuẩn

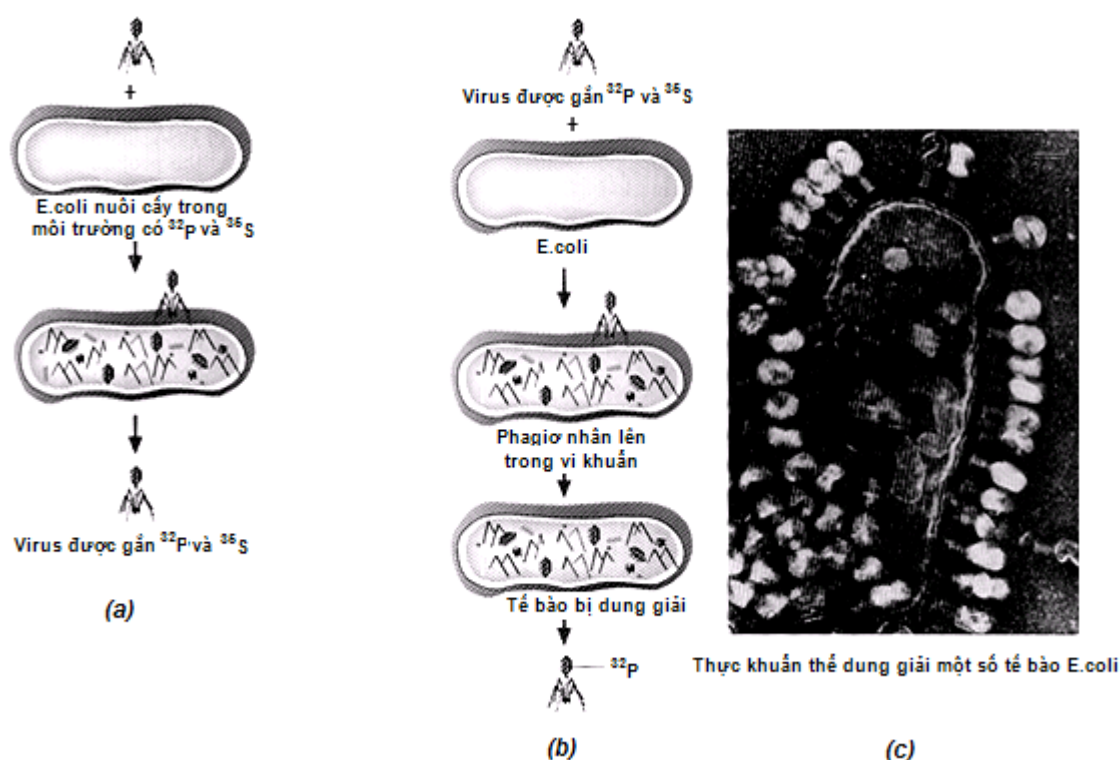
I. Các tế bào chủng R; II. Chất chiết suất của chủng S;
III. Những tế bào chủng R; IV. Tế bào có vỏ chủng S.

1.3. Sự sinh sản của virus ký sinh vi khuẩn (phagior)

Virus ký sinh trong vi khuẩn gọi là phagior có dạng nòng nọc, gồm một đầu, một đuôi và các sợi đuôi, bên ngoài là vỏ protein, bên trong đầu là ADN. Khi phagior nhiễm vào vi khuẩn, các sợi đuôi cắm vào vỏ vi khuẩn và phần ADN của phagior vào vi khuẩn, sau mấy phút thấy phagior sinh sản bên trong vi khuẩn làm vỡ tế bào vi khuẩn, giải phóng ra các phagior mới trong khi vỏ protein của phagior cũ vẫn nằm ở ngoài tế bào vi khuẩn.

Sử dụng phương pháp đánh dấu ADN của phagior bằng đồng vị phóng xạ, người ta đã theo dõi thấy ADN đánh dấu bằng ^{32}P đã vào trong tế bào vi khuẩn, còn protein của phagior được đánh dấu bằng ^{35}S không thấy vào.

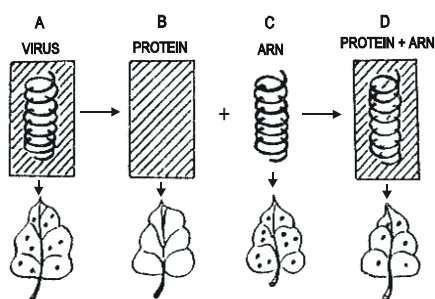
Như vậy là chính ADN đã mang thông tin di truyền của phagior.



Hình 2.5. Thử nghiệm của Hershey-chase về hiện tượng virus xâm nhập vào vi khuẩn

1.4. Thí nghiệm với các virus gây bệnh khảm thuốc lá

Virus gây bệnh khảm thuốc lá gọi là virus khảm thuốc lá. Cấu trúc của nó có hai phần: phần vỏ ngoài là protein còn phần lõi là ARN. Bằng phương pháp hóa học người ta tách ARN và protein riêng ra, khi đem tiêm protein vỏ của virus ấy vào cây thuốc lá thì không thấy sinh bệnh. Như vậy, chỉ ARN là vật liệu di truyền trong trường hợp này.



Hình 2.6. Virus bệnh khảm thuốc lá và thí nghiệm gây

Người ta tách ARN và protein riêng của chủng virus khảm thuốc lá và một chủng virus khác, sau đó trộn ARN của chủng này với protein của chủng kia rồi gây nhiễm cho cây thuốc lá. Kết quả dạng bệnh sinh ra là dạng bệnh thuộc về chủng có ARN. Thí nghiệm này củng cố thêm cho kết luận chính ARN là vật liệu mang thông tin di truyền.

Tóm lại, các thí nghiệm nói trên cho thấy: acid nucleic (ADN hoặc ARN) là vật liệu mang thông tin di truyền ở virus và vi khuẩn.

1.5. Ở Eukaryota

1.5.1. Chiết tách và định lượng ADN

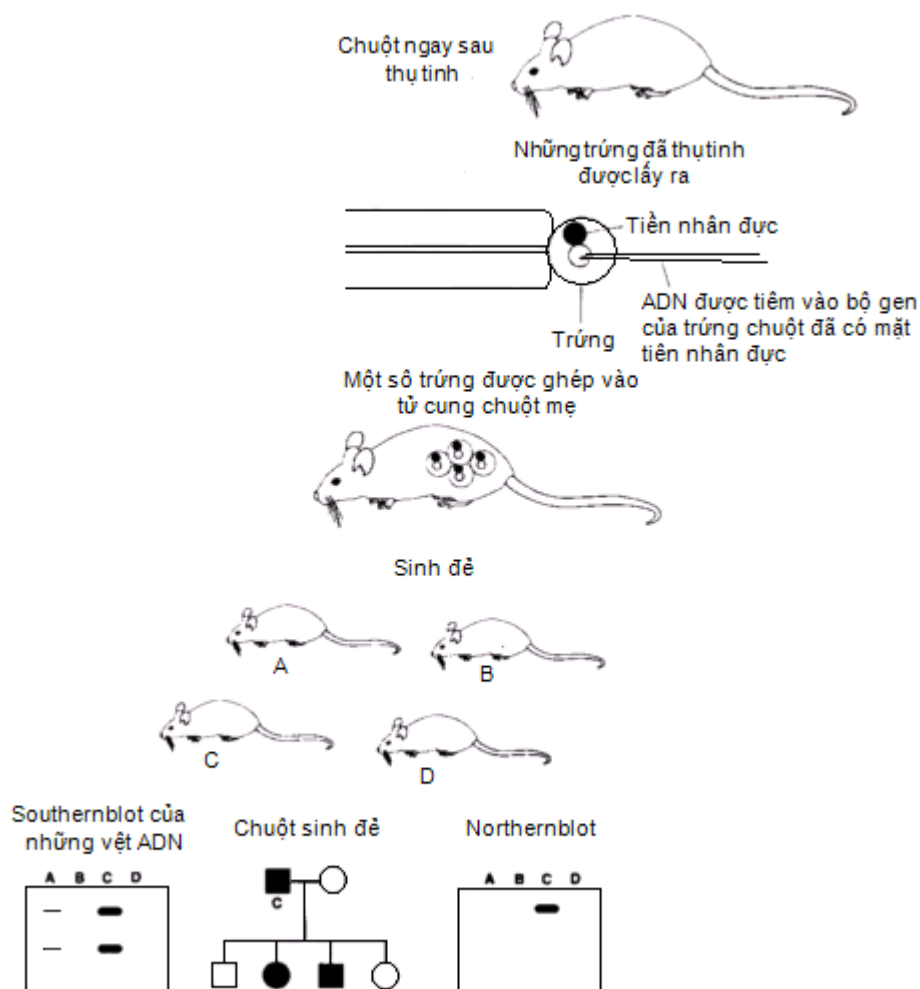
Bằng các phương pháp chiết tách và định lượng ADN trong tế bào Eukaryota, người ta đã chứng minh ở Eukaryota nói chung và ở người nói riêng vật liệu di truyền là ADN. Lượng ADN có thể đo được bằng phản ứng Feulgen trong nhân nhờ quang phổ kế. Người ta cũng đã xác định hàm lượng ADN bằng nhau trong tất cả các tế bào sinh dưỡng của một cơ thể sinh vật. Trong giao tử, hàm lượng ADN giảm đi một nửa. Khi tế bào sắp phân chia thì lượng ADN tăng lên gấp đôi.

1.5.2. Các thí nghiệm về hiện tượng chuột chuyển gen

1.5.2.1. Thí nghiệm 1

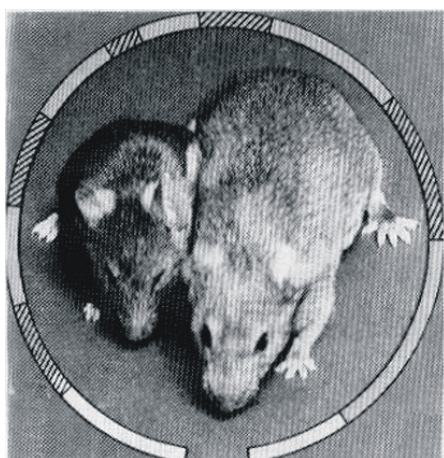
Trứng của chuột ngay sau khi thụ tinh, (trước khi tiền nhân đực và tiền nhân cái hợp nhất) được lấy ra bằng phương pháp phẫu thuật. ADN tinh khiết được tiêm vào bộ gen của trứng chuột đã có mặt tiền nhân đực. Sau đó tiền nhân đực và tiền nhân cái được trộn lẫn, ADN sau khi tiêm được gắn vào một vị trí ngẫu nhiên trong bộ gen của hợp tử. Những trứng này được nuôi tới giai đoạn phôi dậu và được ghép vào tử cung của con chuột mẹ đã được tiêm hormon để chuẩn bị cho trứng làm tổ. Sau khi đẻ, những chuột con được kiểm tra xem có mặt đoạn ADN được tiêm hay không bằng phương pháp Southern blotting. Trong thí nghiệm này một số chuột thế hệ con đã có mặt đoạn ADN được tiêm, còn một số thì không. Sự truyền gen thông thường được truyền tới thế hệ con cháu theo quy luật di truyền trội của Mendel.

Kết quả: khoảng 10 → 30% chuột thế hệ con có mặt đoạn ADN được tiêm trong tế bào.



Hình 2.7. Thí nghiệm về sự hình thành thể hệ chuột chuyển gen

1.5.2.2. Thí nghiệm 2



Hình 2.8. Chuột bình thường và chuột được chuyển gen

Bằng phương pháp như trên, gen tổng hợp hormon sinh trưởng của chuột cống được tiêm vào trứng của chuột nhắt đã có mặt tiền nhân đực. Gen được tiêm đã gắn vào bộ gen của chuột theo cách như trên, gen

này đã sản xuất một số lượng lớn hormon sinh trưởng. Kết quả đã tạo được một con chuột chuyển gen có trọng lượng gấp 3 lần chuột nhất bình thường.

Chuột nhỏ bên trái là chuột bình thường (chưa chuyển gen), chuột bên phải là chuột đã được chuyển gen.

Nhiều thí nghiệm ở các sinh vật Eukaryota khác đã chứng tỏ một số tính trạng ở sinh vật được ghép gen biểu hiện tính chất của những gen được ghép.

2. ACID NUCLEIC

Gen là vật chất di truyền ở mức độ phân tử. Sự bảo quản và truyền đạt thông tin di truyền liên quan trực tiếp với cấu trúc và hoạt động của gen. Bản chất của gen là ADN ở đa số sinh vật, chỉ có một số virus gen có bản chất là ARN.

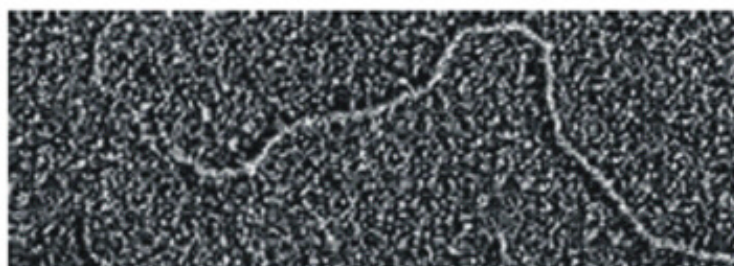
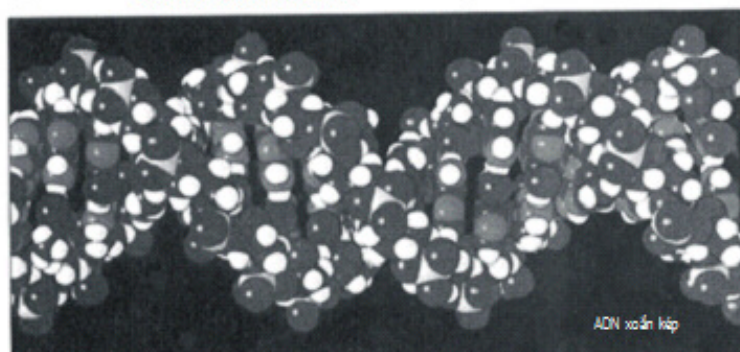
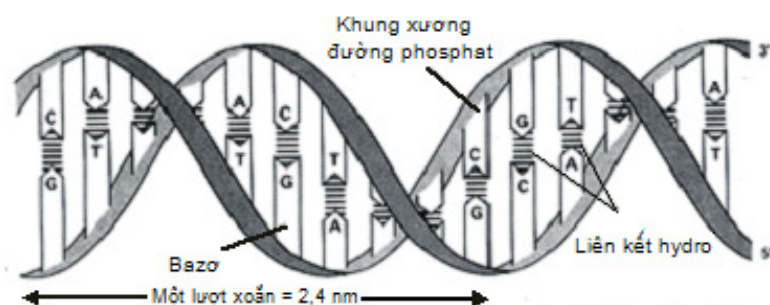
2.1. ADN (Acid deoxyribonucleic)

2.1.1. Thành phần cấu tạo và cấu trúc của ADN

2.1.1.1. Cấu trúc bậc một của ADN

ADN là một polyme cấu tạo bởi nhiều monomer mỗi monomer là một nucleotid. Mỗi một nucleotid gồm có 3 thành phần:

- Đường deoxyribose ($C_5H_{10}O_4$).
- Acid phosphoric (H_3PO_4).



Ảnh hiển vi điện tử của ADN

Hình 2.9. ADN xoắn kép

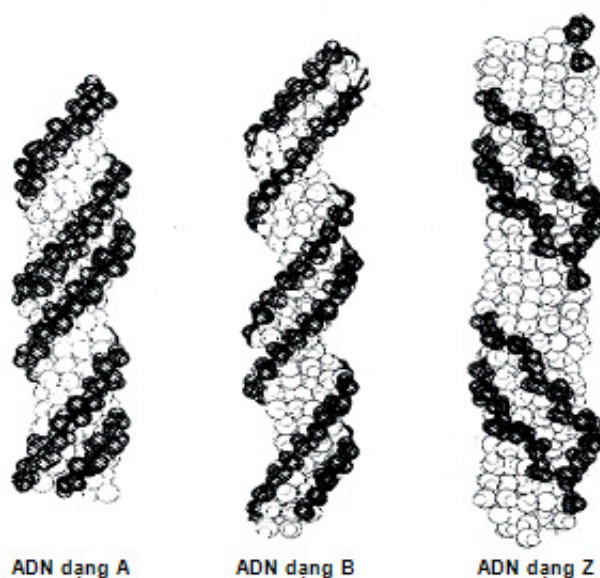
- Một trong 4 loại base chủ yếu: adenin (A), guanin (G) thuộc loại base purin; cytosin(C), thymin (T) thuộc loại base pyrimidin, do đó sẽ có 4 loại nucleotid tạo nên phân tử ADN.

Các mononucleotid được liên kết với nhau bởi những liên kết 3'- 5' phosphodiester. Những liên kết này nối nhóm 3'OH của deoxyribose của một nucleotid với nhóm 5'OH của deoxyribose của một nucleotid khác qua một phân tử acid phosphoric. Các nucleotid nối với nhau như vậy tạo nên một polyme ở dạng sợi đơn.

Mỗi mạch đơn là một trình tự có định hướng, một đầu là đầu 5'phosphat tự do, đầu kia là đầu 3'OH tự do (hướng quy ước là $5' \rightarrow 3'$).

Theo quy ước, để đơn giản trình tự các nucleotid trong chuỗi polynucleotid, người ta biểu thị các nucleotid bằng chữ viết tên các base (theo chữ cái), thứ tự bắt đầu từ đầu 5' của nucleotid thứ nhất tới đầu 3' của nucleotid cuối cùng. Ví dụ: 5' - CCGATTACG - 3'.

2.1.1.2. Cấu trúc bậc hai của ADN



Hình 2.10. ADN dạng A, ADN dạng B, ADN dạng Z.
Mỗi phân tử có cùng số cặp base

Năm 1953 Watson và Crick đã đưa ra mô hình cấu trúc ADN dựa trên kết quả phân tích nhiễu xạ tia X của Franklin và Wilkins. Cấu trúc bậc hai của ADN gồm hai sợi đơn xoắn lại với nhau giống như một cái thang bện xoắn. Hướng của hai mạch đơn trong chuỗi xoắn kép ngược nhau, gọi là hai mạch đối song song. Kích thước ADN được đo như sau: một chu kỳ xoắn kép khoảng 3,4nm và tương đương 10 cặp base. Đường kính của chuỗi xoắn kép là 2nm. Trong chuỗi xoắn kép là các cặp base giữa một purin và một pyrimidin. Khoảng cách giữa những cặp base là 0,34 nm. Bề mặt ngoài của phân tử ADN là khung xương đường phosphat, giữa là các base bổ sung thành từng cặp A với T và G với C.

Từ những dữ kiện trên có hai khái niệm cơ bản sau:

Mỗi mạch đơn là một trình tự những base khác nhau, do đó mỗi mạch đơn mang thông tin khác với mạch kia.

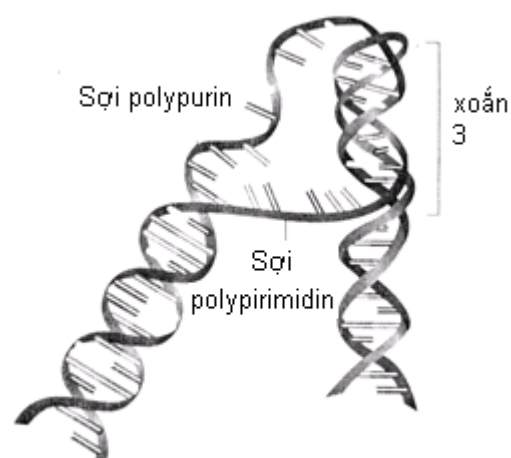
Hướng của hai mạch đơn trong chuỗi xoắn kép ngược nhau, một mạch đơn theo chiều $5' \rightarrow 3'$, một mạch đơn theo chiều $3' \rightarrow 5'$.

Hai mạch đơn liên kết với nhau theo nguyên tắc bổ sung. Chính quan hệ này giải thích được cấu trúc chặt chẽ của phân tử ADN và phương thức tự sao chép để tạo ra hai phân tử con từ một phân tử ADN mẹ.

Trong phân tử ADN, A luôn liên kết với T bằng 2 liên kết hydro, G luôn liên kết với C bằng 3 liên kết hydro cho nên có tỷ số: $A/T=1$ và $G/C=1$ hoặc $A+G/T+C=1$ nghĩa là tổng số base purin bằng tổng số base pyrimidin. Tuy nhiên tỷ số $A+T/G+C$ thay đổi tùy cơ thể, ví dụ: ở tinh trùng người tỷ số đó là 1,67; tuyến ức người 1,54; gan người 1,54; gan bò đực 1,57; nấm men 1,80; phế cầu khuẩn 1,59; *Escherichia coli* 1,00; thể thực khuẩn T2 1,87. Tỷ số này hằng định ở mỗi cơ thể.

ADN có kích thước khá lớn. Trong phân tử ADN, các mối liên kết hydro giữa hai mạch đơn có thể bị đứt rời khi xử lý ở nhiệt độ 100°C hoặc pH kiềm hoặc một vài loại hóa chất.

2.1.1.3. Những dạng khác nhau của ADN



Hình 2.11. ADN dạng H

ADN dạng B: cấu trúc ADN được khám phá bởi Watson và Crick hiện nay được gọi là ADN dạng B. Phân tử ADN dạng B là dạng chuỗi xoắn kép theo chiều từ trái sang phải, đường kính phân tử là 2nm và 10,4 cặp base (bp) trên một chu kỳ xoắn 3,4nm. Phân tử ADN dạng B có hình thể khác nhau là do tính linh hoạt tự nhiên của đường deoxyribose.

ADN dạng A: phân tử ADN dạng A tương tự dạng B. Trong dạng A những cặp base nghiêng 20° cách mặt phẳng ngang. Đường kính phân tử ADN ở dạng A là 2,6nm, một chu kỳ xoắn là 2,8 nm, khoảng cách giữa các cặp base thì giảm nhẹ (11 cặp base trên một chu kỳ xoắn đối với ADN dạng A so với dạng B là 10,4 cặp base trên một chu kỳ xoắn 3,4 nm).

ADN dạng Z: (Z là viết tắt của chữ Zigzag): phân tử ADN dạng Z có đường kính phân tử là 1,8nm, mảnh hơn ADN dạng B. Phân tử ADN dạng Z có chuỗi xoắn kép trái gồm 12 cặp base trên một chu kỳ xoắn. Một chu kỳ xoắn của ADN dạng Z là 4,5nm. ADN dạng Z là đoạn ADN ngắn khoảng 12 – 24 nucleotid nằm ở vùng gen tham gia điều hòa sự sao chép. Vai trò của ADN dạng Z còn chưa được xác định rõ ràng nhưng Z – ADN có thể có ảnh hưởng tới việc điều hòa biểu hiện của một số gen.

Ngoài ra còn có **ADN dạng H:** ADN dạng H còn gọi là H-ADN là trình tự ADN chứa một đoạn dài sợi polypurin liên kết với sợi polypyrimidin bằng liên kết hydro, cũng có đoạn hình thành xoắn ba “triple helix” (hình 3.11).

Ý nghĩa của H-ADN thì chưa được biết rõ. Tuy nhiên H-ADN được cho là có vai trò trong biểu hiện gen của một số tế bào có nhân chuẩn, vì người ta đã quan sát thấy ADN dạng H trong vùng điều hòa sự biểu hiện của một số gen thuộc tế bào có nhân chuẩn.

2.1.1.4. Các bậc cấu trúc khác của ADN

ADN ở các loài khác nhau, cũng như ở ty thể, Lạp thể có kích thước và hình dạng khác nhau tùy theo mức độ xoắn và gấp khúc nhiều hay ít.

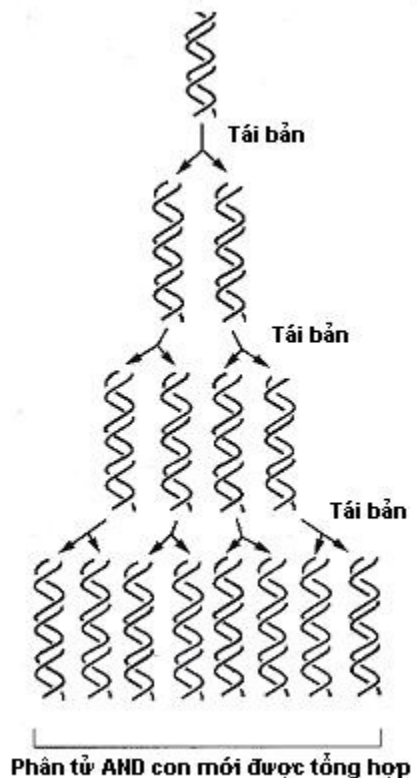
Các phân tử ADN ở tế bào Eukaryota có dạng xoắn kép thẳng, có các đầu tự do.

Các phân tử ADN ở tế bào Prokaryota như một số vi khuẩn, virus có dạng xoắn kép vòng, gấp khúc nhiều hay ít tạo nên cấu trúc không gian ba chiều.

ADN ở các bào quan như ty thể, Lạp thể cũng có dạng xoắn kép vòng tương tự như ADN của tế bào Prokaryota.

2.1.2. Đặc điểm của ADN

Phân tử ADN mẹ khuôn mẫu xoắn kép



Hình 2.12 Tái bản ADN theo kiểu bán bảo tồn

ADN là nơi bảo quản và truyền đạt những thông tin di truyền của cơ thể, dựa trên trình tự những base có mặt trong sợi ADN. Một phân tử ADN dài n base có 4^n trình tự có thể có. Trình tự ADN đầy đủ của một cơ thể chứa thông tin di truyền đầy đủ của cơ thể đó và được gọi là bộ gen (genome). Những virus nhỏ nhất có genome chỉ một vài nghìn cặp base và chỉ chứa một số nhỏ gen. Số cặp base trong bộ gen đơn bội của mỗi loài dao động nhiều từ 4×10^6 cặp base ở vi khuẩn tới 3 tỷ (3×10^9) cặp base ở người. Bộ gen E. coli ước tính có 3000 gen, bộ gen ở người có 31780 gen.

ADN có khả năng biến tính (denaturation) và hồi tính (renaturation). Sự biến tính là hiện tượng hai

sợi đơn của phân tử ADN tách rời nhau, điều này xảy ra khi các liên kết hydro giữa các base bổ sung nằm trên hai sợi bị cắt đứt do những tác nhân vật lý (nhiệt độ), hay hóa học (dung dịch kiềm, formamide, urê). Sau đó nếu điều chỉnh nồng độ muối và nhiệt độ thích hợp (hạ nhiệt độ dần dần) các sợi đơn lại có thể bắt cặp trở lại theo nguyên tắc bổ sung ($A=T$, $G \equiv C$) để hình thành phân tử ADN ban đầu, đó là sự hồi tính. Đặc điểm này của phân tử ADN có ý nghĩa quan trọng trong nghiên cứu, được sử dụng vào phương pháp lai phân tử.

ADN có khả năng tái bản: mỗi một sợi đơn chứa đựng thông tin đầy đủ của phân tử ADN, có thể phục vụ như một sợi khuôn để tổng hợp nên một sợi mới, bổ sung với sợi cũ. Kiểu tái bản này là kiểu bán bảo tồn bởi vì mỗi ADN con chứa một sợi ADN cũ và một sợi được tổng hợp mới.

ADN có khả năng tổng hợp ARN (phiên mã).

ADN có thể bị đột biến: sự tái bản ADN có thể có những sai sót gây nên những đột biến. Đột biến có thể được sao chép trong tất cả những thế hệ tế bào tương lai, hậu quả của đột biến phụ thuộc vào nơi đột biến xảy ra. Một số đột biến có thể “im lặng” và không ảnh hưởng tới chức năng của protein.

Kích thước ADN ở Eukaryota hoàn toàn không có mối liên quan gì với kích thước và mức độ tiến hóa của sinh vật: một số thực vật và lưỡng cư có ADN lớn gấp trăm lần so với ADN ở người.

2.1.3. Đặc điểm của bộ gen

Ở Prokaryota gen là những đoạn ADN liên tục tham gia mã hóa để tổng hợp protein (exon). Ở sinh vật bậc cao, bộ gen gồm toàn bộ các đơn vị di truyền chứa trong một bộ đơn bội nhiễm sắc thể của một loài, ngoài ra còn có gen ngoài nhân có mặt trong ty thể của tế bào động vật hoặc lục lạp thể của tế bào thực vật.

Toàn bộ phân tử ADN ở Prokaryota đều mang thông tin mã hóa cho các protein trong khi ADN ở Eukaryota bao gồm những trình tự mã hóa (các exon) xen kẽ với những trình tự không mã hóa (intron). Tùy mức độ có mặt của chúng trong nhân mà các trình tự ADN ở Eukaryota được chia làm 3 loại:

- Các trình tự duy nhất: là các gen mã hóa cho các protein, các trình tự này đặc trưng cho từng gen. Loại này chiếm khoảng 10% bộ gen của sinh vật bậc cao.
- Các trình tự lặp lại nhiều lần: chiếm 10 - 15% bộ gen của động vật có vú. Đó là những trình tự không mã hóa, thường tập trung ở vùng chuyên biệt trên nhiễm sắc thể như vùng tâm động hay ở đầu mút các nhiễm sắc thể. Chức năng của chúng chưa rõ, có thể trình tự ADN ở vùng tâm động tham gia vào quá trình di chuyển của ADN trên thoi vô sắc, trình tự ADN nằm ở đầu mút của nhiễm sắc thể có thể tham gia vào quá trình sao chép toàn vẹn phần ADN nằm ở đầu mút của nhiễm sắc thể.

ADN lặp lại nhiều lần được chia làm hai loại: loại có chuỗi nucleotid ngắn từ 5 - 10 đôi base chiếm đa số, số lượng bản sao có thể tới hàng trăm triệu và loại thứ hai có chuỗi nucleotid dài hơn từ 100 - 200 đôi base.

- Các trình tự có số lần lặp lại trung bình: chiếm khoảng 25 - 40% bộ gen người. Chúng là những cấu trúc gồm các đoạn chuỗi nucleotid lặp lại, nhưng đoạn chuỗi nucleotid dài hơn từ 100 đến 1000 đôi base. Các trình tự ADN này phân tán trong toàn bộ gen. Chúng có thể là những trình tự không mã hóa, nhưng chúng cũng có thể có chức năng phiên mã: chúng là gen của các rARN, tARN và một số gen khác nữa.

Các gen nhảy (transposon): đó là những đoạn ADN có khả năng tích hợp vào gen hoặc rời khỏi gen, làm biến đổi hoạt động di truyền. Hiện tượng này lúc đầu phát hiện thấy ở E.coli, về sau người ta đã

phát hiện thấy ở cả động vật và thực vật.

- Các transposon ở vi khuẩn có nguồn gốc từ ADN của bộ gen, còn phần lớn các transposon ở Eukaryota lại bắt nguồn từ ARN. Các ARN này gắn xen vào bộ gen theo cơ chế mà phần lớn các retrovirus sử dụng. Chính vì thế mà chúng còn được gọi là các retroposon.

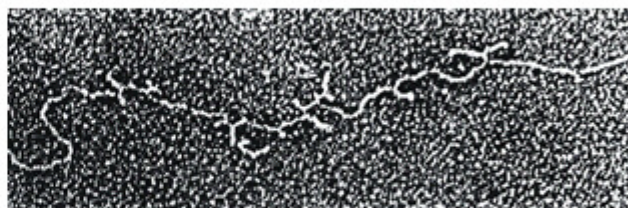
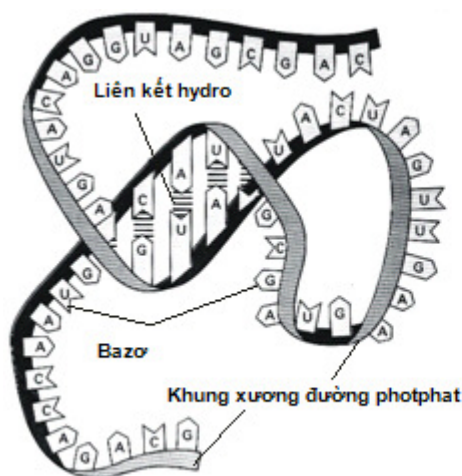
- Các retroposon có hai nhóm: nhóm 1 gồm các retroposon có nguồn gốc từ các ARN của tế bào, nhóm 2 là nhóm các retroposon có nguồn gốc từ retrovirus.

Gen gối nhau (overlapping genes): trong ADN của virus và của tế bào sinh vật bậc cao người ta phát hiện thấy những gen gối nhau có nghĩa là hai gen hoặc hơn hai gen có chung một phần chuỗi ADN. Các gen này do cách cấu trúc khác nhau nên tạo ra các ARN tiền thân khác nhau rồi tổng hợp ra các ARN thông tin tương ứng khác nhau và tổng hợp ra những protein khác nhau. Ví dụ: gen Calcitonin/Neuropeptid có 6 exon. Do cách ghép nối các exon khác nhau có thể tạo ra hai ARN thông tin khác nhau và tổng hợp nên hai sản phẩm protein khác nhau là calcitonin và neuropeptid.

2.2. ARN (*Acid ribonucleic*)

2.2.1. Cấu tạo của ARN

2.2.1.1. *Cấu tạo bậc một*: phân tử ARN cũng là polyme gồm các monome gọi là ribonucleotid. Mỗi ribonucleotid cũng có ba thành phần gồm acid phosphoric, đường ribose ($C_5H_{10}O_5$) và base. Tất cả các ARN từ các sinh vật đều chứa 4 base chủ yếu: adenin (A), guanin (G) là các purin còn cytosin (C) và uracyl (U) là các base pyrimidin. Ngoài ra còn hay gặp một số base hiếm khác nữa như uridin giả, ribothymidin, inosin. Tỷ lệ số base hiếm nhiều hơn ở ADN. Acid phosphoric nối với phân tử đường bằng mối liên kết este, các base nitơ nối với phân tử đường ở vị trí carbon 1.



Ảnh hiển vi điện tử của ARN

Hình 2.13. ARN dạng sợi đơn có chứa những vùng có những cặp base bổ sung

Chuỗi ribonucleotid nối với nhau bởi các dây nối dieste trong đó cứ một phân tử acid phosphoric tạo nên một cầu nối giữa hai vị trí 3' và 5' của hai phân tử đường kế cận. Chuỗi đó gọi là polyribonucleotid và là cấu tạo bậc một của ARN.

Các phân tử ARN chỉ có một chuỗi đơn và chứa khoảng 50 - 6000 ribonucleotid.

2.2.1.2. *Cấu tạo bậc hai, bậc ba*: nhiều phân tử ARN có thể uốn cong thành những hình dạng đặc biệt và gấp khúc tạo nên cấu tạo bậc hai chứa hai chuỗi đơn nằm song song cạnh nhau và các ribonucleotid của hai bên có thể liên kết với nhau từng phần bằng các cầu nối hydro giữa các base cũng theo nguyên tắc bổ sung A với U, G với C, phân tử ARN có thể gấp khúc phức tạp tạo nên cấu trúc bậc

ba.

2.2.2. Phân loại ARN

Các loại ARN được chia làm hai nhóm chính.

2.2.2.1. ARN di truyền: ARN di truyền mang thông tin di truyền bậc một gặp ở đa số virus thực vật, một số virus động vật và một số thể thực khuẩn. Loại ARN này có thể ở dạng sợi đơn hoặc kép.

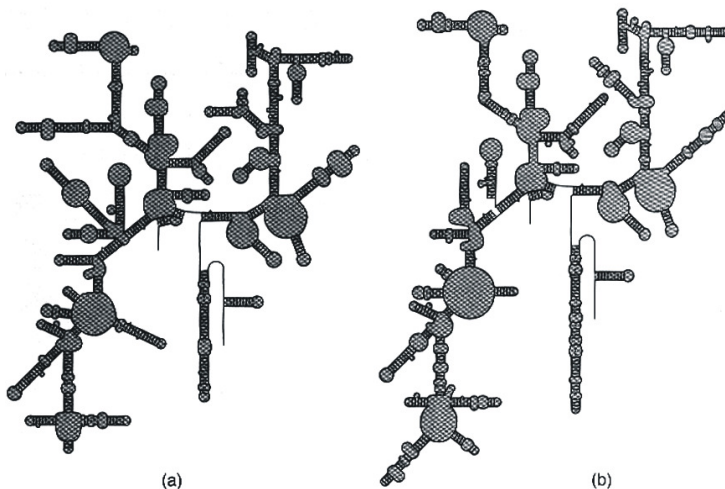
2.2.2.2. ARN không di truyền: bao gồm các ARN chuyển hóa được tổng hợp bởi ADN trong các quá trình phiên mã. Có ba loại chính là ARN ribosom (rARN) chiếm 80% tổng lượng ARN của tế bào, ARN vận tải (tARN) chiếm 10 - 15% và ARN thông tin (mARN) chiếm 5 - 10% tổng lượng ARN của tế bào. Mỗi loại ARN được tổng hợp từ các gen đặc hiệu tương ứng gọi là rADN, tADN, mADN. Ngoài ra còn có các ARN nhỏ trong nhân.

- ARN ribosom (rARN)

rARN là thành phần chủ yếu của ribosom, ngoài ra còn thấy ở ty thể và ở lục lạp, rARN chiếm tỷ lệ cao nhất trong tế bào sống (80% tổng lượng ARN của tế bào) có những sự khác nhau về cấu trúc bậc một của rARN. Cấu trúc bậc hai của rARN có dạng uốn cong và có liên kết hydro từng quãng tạo nên những hình chiếc cặp tóc dài ngắn khác nhau. Các base có liên kết bổ sung có khi lên tới vài chục base. Sơ đồ cấu trúc bậc hai của ARN ribosom như hình 3.13. Ribosom ở Prokaryota là loại ribosom 70S bao gồm hai phân đơn vị: phân đơn vị lớn 50S và phân đơn vị nhỏ 30S. ở Eukaryota ribosom 80S bao gồm hai phân đơn vị: phân đơn vị lớn 60S và phân đơn vị nhỏ 40S.

Chức năng của rARN: có vai trò cấu trúc vì rARN là thành phần cấu tạo của ribosom một số ARN còn có chức năng xúc tác như một protein. Những chức năng riêng của từng loại rARN còn chưa rõ và đang được nghiên cứu.

- ARN vận tải (tARN)



Hình 2.14. Sơ đồ cấu trúc ba chiều của những rARN 16S

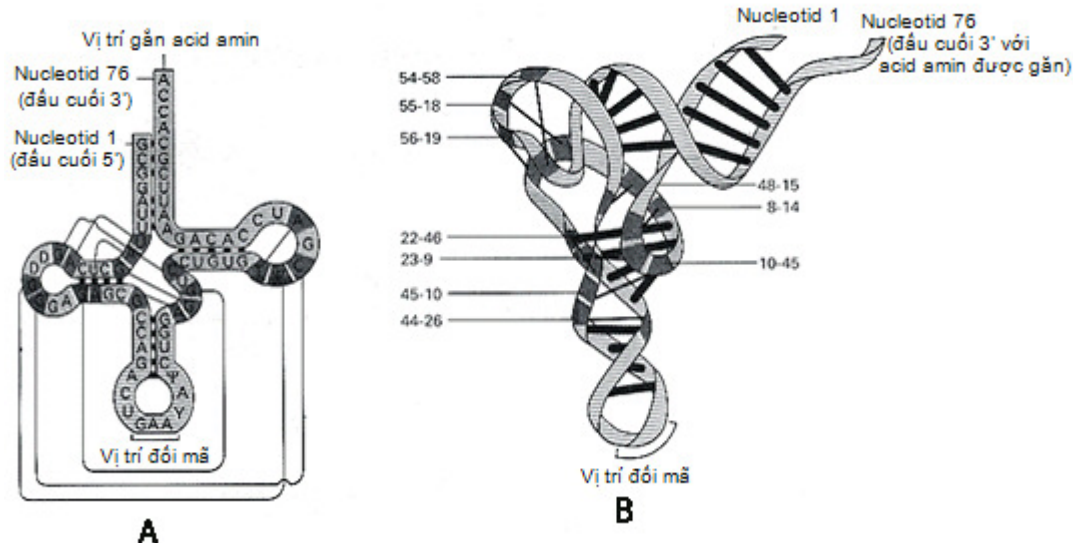
(a) E.coli; (b) Nấm Saccharomyces

ARN vận tải chiếm 15% tổng lượng ARN trong tế bào, phân tử tARN có độ dài trung bình khoảng 75 nucleotid.

Cấu tạo bậc hai của tARN là hình lá ba chẽ mang các đoạn chuỗi kép với chiều dài và số đôi base hằng định. Các đoạn sợi đơn uốn thành hình các vòng thì khá giống nhau, chỉ khác nhau ở vài vị trí.

Vòng hình ngón kích thước thay đổi từ 4 đến 14 base. Cấu tạo hình lá ba chẻ gấp khúc lại cho cấu tạo bậc ba. tARN có các vị trí đặc biệt trong đó có hai vị trí đáng lưu ý nhất:

Vị trí gắn acid amin: đó là dãy CCA ở một đầu (3') của phân tử.



Hình 2.15. ARN vận tải phenylalanin của nấm

A. Phân tử tARN có hình lá ba chẻ với những cặp base bổ sung.

B. Hình dáng thực sự của phân tử tARN dựa trên phân tích nhiễu xạ tia X

Vị trí nhận biết mã gọi là vị trí đối mã: vị trí này đặc hiệu cho mỗi phân tử tARN. Ở vị trí đó, nhờ có base đặc hiệu nên tARN nhận biết chính xác đơn vị mã tương ứng trên phân tử mARN theo quy tắc bổ sung. Chức năng chủ yếu của tARN là vận tải acid amin đến ribosom và cùng với mARN đặt acid amin vào vị trí thích hợp trên chuỗi polypeptid. Mỗi phân tử tARN chỉ liên kết tạm thời với một acid amin nhất định nhờ aminoacyl-tARN synthetase, enzyme này đặc hiệu cho từng acid amin. Có trên 60 loại tARN khác nhau mà chỉ có khoảng 20 acid amin vì thế mỗi acid amin, có thể được liên kết và vận tải bởi vài loại tARN khác nhau, tARN được tổng hợp từ các gen chuyên trách (tADN), ở Prokaryota có 40 - 80 gen này. ở Eukaryota có 520 - 1400 gen tùy từng sinh vật. Các gen này nằm thành từng cụm rải rác trên các nhiễm sắc thể.

ARN vận tải có những cấu trúc hình vòng rõ rệt. Vòng D (D loop) được đặt tên như vậy bởi vì nó chứa dihydrouridin, tương tự vòng TψC chứa trình tự base thymine, pseudouridine và cytosine. Những ARN vận tải được phân loại dựa trên độ dài của những cấu trúc hình vòng thay đổi. Đa số (xấp xỉ 80%) những ARN vận tải có những cấu trúc vòng thay đổi 4 hoặc 5 nucleotide. Trong khi đó những ARN vận tải khác có những cấu trúc vòng thay đổi nhiều tới khoảng 20 nucleotide.

- ARN thông tin (messenger ARN viết tắt là mARN)

ARN thông tin mang thông tin di truyền từ ADN để tổng hợp protein. ARN thông tin chiếm xấp xỉ 5% tổng lượng ARN của tế bào. Độ dài của ARN thông tin rất thay đổi, ở E. coli ARN thông tin có độ dài thay đổi từ 500 tới 6000 nucleotide. ARN thông tin ở Prokaryota và Eukaryota khác nhau ở vài khía cạnh. Trước hết những ARN thông tin ở Prokaryota thường chứa đựng thông tin mã hóa cho vài chuỗi polypeptid còn ở Eukaryota mỗi mARN chỉ mã hóa để tổng hợp một chuỗi polypeptid. Thứ hai là những ARN thông tin ở Prokaryota và Eukaryota hoạt động khác nhau, ARN thông tin ở Prokaryota được dịch mã ngay thành protein, còn ở Eukaryota ARN tiền thân tạo ra mARN bằng cách gắn thêm "cái mũ" 7 methylguanosine triphosphate vào nucleotide tại đầu 5', "cái mũ" này về sau giữ vai trò quan trọng khởi đầu

tổng hợp protein và bảo vệ bản sao ARN chống lại sự phân hủy. Sau đó là quá trình loại bỏ các intron và nối các exon lại với nhau, cuối cùng là sự gắn đuôi poly A vào đầu cuối 3'. Đuôi poly A có chức năng giúp mRNA di chuyển từ nhân ra tế bào chất và bảo vệ mRNA trong quá trình dịch mã ở tế bào chất.

- ARN nhỏ trong nhân (Small nuclear ARN)

ARN nhỏ trong nhân ký hiệu là snARN. Những phân tử ARN nhỏ trong nhân chứa khoảng 90 tới 300 nucleotid và một vài loại protein để tạo thành phức hợp ribonucleoprotein (Small nuclear ribonucleoprotein particles) viết tắt là snRNP. Có loại U_1 , U_2 , U_4 , U_5 , U_6 , snRNP. Những phức hợp ribonucleoprotein này tham gia vào các quá trình loại bỏ intron và nối các exon với nhau để tạo thành ARN thuần thực.

3. CHỨC NĂNG CỦA ACID NUCLEIC

3.1. Quá trình tái bản của ADN

Sự tái bản ADN xảy ra trước khi tế bào phân chia. Phân tử ADN kép mở xoắn tạo thành hai sợi đơn, mỗi sợi đơn của phân tử ADN mẹ được thực hiện như sợi khuôn để tổng hợp sợi ADN mới. Các nucleotid trong môi trường đến gắn với các nucleotid ở hai sợi khuôn theo nguyên tắc bổ sung. Kết quả hai phân tử ADN con được tổng hợp, mỗi phân tử có một sợi ADN khuôn, còn sợi kia là mới được tổng hợp. Sự tái bản ADN được thực hiện trên cả hai sợi đơn theo hướng từ 5' đến 3', vì ADN polymerase chỉ xúc tác việc gắn các nucleotid vào nhóm 3' - OH tự do.

Sự tái bản phân tử ADN có sự tham gia của nhiều thành phần: sợi ADN dùng làm khuôn mẫu, các nucleozit triphosphat: dATP, dGTP, dTTP, dCTP, các protein gắn đặc hiệu và các enzym. Ở Prokaryota sự tổng hợp những sợi ADN mới dựa trên sợi đơn khuôn được xúc tác bởi những enzym ADN polymerase: ADN polymerase III là enzym chủ yếu tham gia vào chức năng tái bản ADN, ADN polymerase I có chức năng sửa chữa ADN và loại bỏ ARN mồi, ADN polymerase II chức năng chưa được rõ, tuy nhiên người ta thấy enzym này xuất hiện cùng một lúc với ADN polymerase I.

3.1.1. Sự tái bản ở Prokaryota

Ở Prokaryota cũng như ở Eukaryota trước khi xảy ra quá trình tái bản ADN, phân tử ADN xoắn kép ở dạng siêu xoắn được tháo xoắn nhờ những enzym topoisomerase. Có hai loại enzym topoisomerase: topoisomerase I và topoisomerase II.

Sự tái bản ở Prokaryota gồm 3 giai đoạn:

3.1.1.1. Giai đoạn khởi đầu: nơi bắt đầu sự tái bản của phân tử ADN (còn gọi là điểm gốc của sự tái bản) được xác định bởi các protein gắn sợi ADN đơn còn gọi là protein SSB (single DNA strand binding protein). Các protein SSB này có chức năng xác định vị trí khởi đầu sự tái bản và ngăn cản hai sợi đơn kết hợp lại với nhau trong quá trình tái bản.

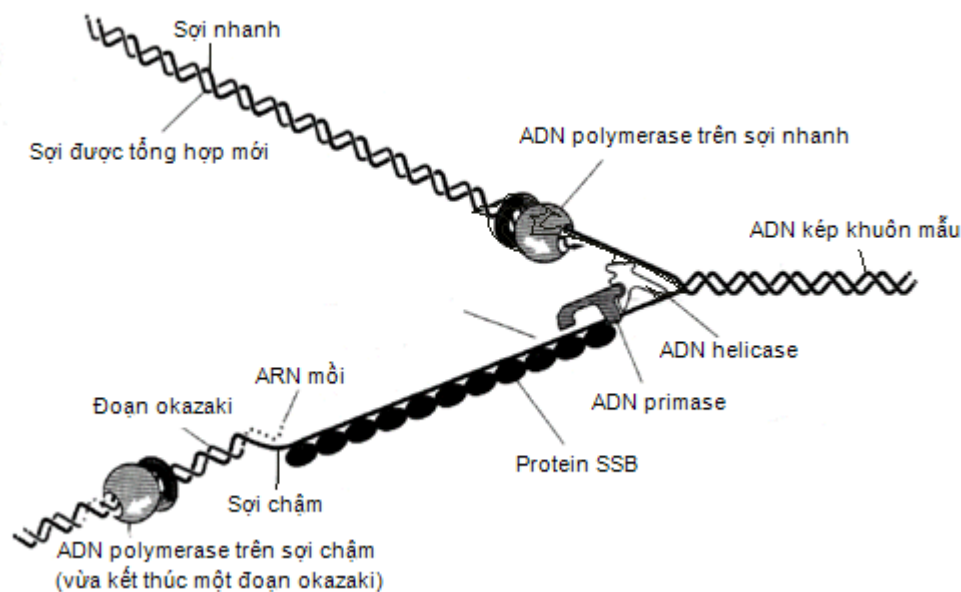
ADN helicase gắn với protein SSB để xác định vị trí bắt đầu mở xoắn kép. Sau đó helicase được giải phóng khỏi phức hợp và sự mở xoắn tiếp tục tạo nên một cái rĩa chẻ hai. Tiếp đó ADN helicase gắn với ADN primase để tạo phức hợp primosome (thể khởi đầu). Dưới sự mở xoắn của enzym ADN helicase, thể khởi đầu (primosome) chuyển động trên sợi chậm (lagging strand) của rĩa tái bản, khi trượt đến đâu thì tổng hợp những ARN mồi ở đó nhờ enzym ADN primase. Đồng thời với quá trình mở xoắn ADN để tạo rĩa tái bản, hai phân tử ADN polymerase III giống hệt nhau, một được gắn vào sợi nhanh (leading strand) của rĩa tái bản, một được gắn vào sợi chậm (lagging strand) của rĩa tái bản.

3.1.1.2. Giai đoạn kéo dài: ADN khuôn gồm hai sợi đơn khuôn bổ sung nhau. Việc tổng hợp trên một sợi đơn khuôn là liên tục, còn sợi đơn kia được tổng hợp gián đoạn.

Tại sợi đơn khuôn tổng hợp theo kiểu liên tục hay sợi nhanh (leading strand), ADN polymerase III cùng với hai phân tử protein có tác dụng như cái kẹp giữ cho ADN polymerase trượt trên sợi đơn khuôn, trượt đến đâu thì sự tổng hợp chuỗi ADN mới được thực hiện đến đó bằng cách trùng hợp các nucleotid theo chiều $5' \rightarrow 3'$.

Tại sợi đơn khuôn tổng hợp theo kiểu gián đoạn còn gọi là sợi chậm lagging strand, ADN polymerase III di chuyển trên sợi chậm xúc tác việc gắn các nucleotid vào ARN mồi để tổng hợp nên đoạn ADN gọi là đoạn Okazaki. Để tạo điều kiện cho sự tổng hợp theo kiểu gián đoạn, sợi chậm phải gấp khúc lại. Sự tổng hợp ADN xảy ra tại vài điểm trên vùng tái bản. Mỗi đơn vị tái bản gồm ARN mồi và đoạn Okazaki cách đơn vị khác một khoảng đều đặn (khoảng này từ 100 đến 200 nucleotid ở Eukaryota và từ 1000 đến 2000 nucleotid ở vi khuẩn).

3.1.1.3. Giai đoạn kết thúc: tại sợi tổng hợp theo kiểu gián đoạn, những ARN mồi bị loại bỏ bởi enzyme ADN polymerase I, enzyme này có khả năng nhận ra sợi ARN trong phân tử lai ARN/ADN. Sự loại bỏ ARN mồi để lại những khoảng trống (gap). Những khoảng trống được hoàn thiện đầy đủ bởi ADN polymerase I và enzyme nối ADN (ADN ligase). Quá trình trên gọi là quá trình khôi phục hoàn thiện sợi ADN.



Hình 2.16. Những protein tham gia tái bản ADN

Tại sợi tổng hợp theo kiểu liên tục tín hiệu kết thúc sẽ báo hiệu kết thúc tổng hợp sợi ADN liên tục mới.

3.1.2. Sự tái bản ở Eukaryota

Sự tái bản ở tế bào Eukaryota cũng tương tự như ở Prokaryota và được tiến hành dựa theo nguyên tắc:

- Hai hướng.
- Theo chiều $5' \rightarrow 3'$.

- Một sợi đơn tổng hợp theo kiểu liên tục, một sợi đơn tổng hợp theo kiểu gián đoạn.
- Cần những ARN mồi.

Tuy nhiên sự tái bản ở tế bào Eukaryota có một số điểm khác:

- Do phân tử ADN ở tế bào Eukaryota rất lớn, nên sự tái bản ở tế bào Eukaryota bắt đầu cùng một lúc ở nhiều điểm khởi đầu, trong khi đó ở tế bào Prokaryota chỉ có một điểm khởi đầu.

- Ở tế bào Prokaryota sự tái bản ADN là do ba loại ADN polymerase đảm nhiệm. Còn ở tế bào Eukaryota sự tái bản ADN là do các loại ADN polymerase sau đảm nhiệm:

+ ADN polymerase α hay ADN primase có chức năng tổng hợp ARN mồi cho mạch chậm, các chức năng khác chưa được rõ. Enzym này không có khả năng sửa sai (không có hoạt tính exonuclease) nên không phải là thành phần duy nhất tham gia vào quá trình sao chép.

+ ADN polymerase β : có chức năng giống ADN polymerase I ở Prokaryota, nghĩa là tổng hợp đi kèm với sửa sai và hoàn chỉnh mạch mới sau khi các ARN mồi bị loại bỏ.

+ ADN polymerase γ được tìm thấy ở ty thể, chức năng chưa được rõ.

+ ADN polymerase δ có chức năng gần với ADN polymerase III ở Prokaryota.

+ ADN polymerase ϵ mới được phát hiện gần đây, vai trò của chúng chưa được rõ.

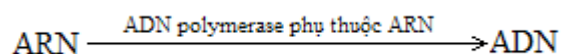
- Ngoài các ADN polymerase kể trên, hệ thống các thành phần tham gia quá trình tái bản ADN ở Eukaryota còn có nhiều protein chuyên biệt như: kháng nguyên trong nhân tế bào đang phân chia có chức năng hoạt hóa các ADN polymerase ϵ và δ , các nhân tố sao chép A và C (Replication Factor, RF-A, RF-C) cần cho hoạt động của các ADN polymerase α và δ .

Mô hình tái bản ADN ở Eukaryota được đề xuất như sau:

- Trước hết ADN được tháo xoắn nhờ topoisomerase và nhân tố sao chép A (RF-A). Trên mạch chậm ADN polymerase α tương tác với nhân tố RF-A tổng hợp ARN mồi dài độ 10 nucleotid. Mồi này được nối dài thêm độ 20 nucleotid nhờ ADN polymerase α kết hợp với nhân tố sao chép (RF-C). Lúc đó, sự phối hợp kháng nguyên trong nhân tế bào đang phân chia chặn ADN polymerase α lại, giúp cho ADN polymerase δ gắn vào và tổng hợp đoạn Okazaki. ADN polymerase α được giải phóng sẽ được chuyển lên mạch đối diện và tổng hợp liên tục mạch mới.

3.1.3. Sự tổng hợp ADN nhờ phiên mã ngược

Năm 1970 Baltimore, Temin đã công bố: trong các virus loại ARN tồn tại một enzym có khả năng tổng hợp ADN dựa trên khuôn ARN, đó là ADN polymerase phụ thuộc ARN hay còn gọi là enzym phiên mã ngược (reverse transcriptase).



Đầu tiên, enzym phiên mã ngược được phát hiện ở virus gây ung thư, sau đó được phát hiện cả ở các mô bình thường. Nhờ có phiên mã ngược mà từ phân tử lai ARN - ADN, phân tử ADN kép được tạo thành mang thông tin được sao từ ARN.

3.2. Sự tổng hợp ARN (sự phiên mã)

Phiên mã là quá trình dựa trên khuôn mẫu của ADN để tạo ra các ARN khác nhau.

3.2.1. Sự phiên mã ở Prokaryota

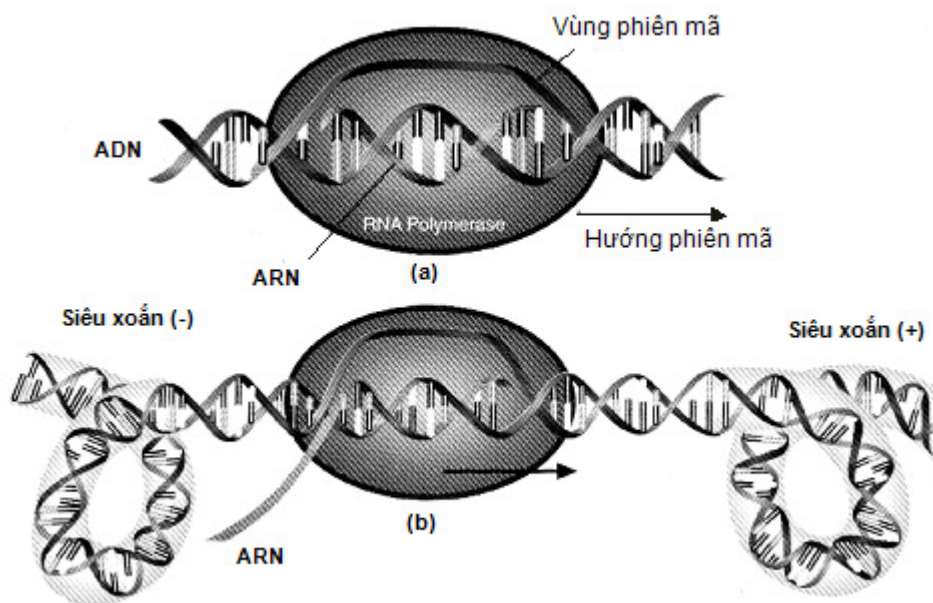
Enzym

Ở Prokaryota chỉ có một loại ARN polymerase xúc tác tổng hợp các loại ARN. ARN polymerase là một phức hợp lớn, có trọng lượng phân tử là 500.000 KDa, gồm 5 chuỗi polypeptid: α , β , β' , ω và chuỗi σ (sigma), phần lõi enzym gồm hai chuỗi α ; chuỗi β , β' và chuỗi ω xúc tác tổng hợp ARN; sự gắn chuỗi σ tạm thời vào lõi enzym ARN polymerase cho phép enzym này gắn vào vị trí thích hợp trên hai sợi đơn khuôn ADN để khởi đầu sự phiên mã. Chuỗi σ của enzym ARN polymerase khác nhau ở các vi khuẩn khác nhau. ở E. coli chuỗi σ 70 thực hiện khởi đầu phiên mã ở đa số gen, nhưng chuỗi σ 28 khởi đầu phiên mã cho một protein tham gia vào cấu tạo roi của vi khuẩn.

Quá trình phiên mã ở vi khuẩn E. coli gồm ba giai đoạn: khởi đầu, kéo dài và kết thúc.

3.2.1.1. Giai đoạn khởi đầu

ARN polymerase gắn với đoạn ADN đặc hiệu nằm trong vùng khởi đầu (promotor). Vùng khởi đầu của gen có thể thay đổi từ 20 - 200 cặp base. Trong vùng khởi đầu có vùng -35 và -10 (trước điểm phiên mã 35 và 10 cặp base) vùng này có các “hộp khởi đầu” các hộp này tương tự nhau ở mọi vi khuẩn. Khởi đầu sự phiên mã, ARN polymerase trượt dọc trên phân tử ADN cho tới khi nó gắn vào vùng khởi đầu. Khi enzym gắn vào vùng này, đoạn ADN ngăn gần hộp khởi đầu tháo xoắn và một sợi đơn ADN bộc lộ dưới dạng tự do làm khuôn tổng hợp cho ARN. Sự phiên mã bắt đầu bằng cách gắn nucleozid triphosphat đầu tiên thường là ATP hoặc GTP vào phức hợp ARN polymerase, nucleozid triphosphat thứ 2 gắn với nucleozid triphosphat thứ nhất ở vị trí 3' - OH thông qua gốc phosphat tạo liên kết phosphodiester đầu tiên. Các nucleozid triphosphat tiếp theo gắn với nucleozit triphosphat trước nó theo kiểu như vậy. Trong hai sợi ADN chỉ có một sợi làm khuôn mẫu tham gia tổng hợp ARN theo nguyên tắc bổ sung, khi trình tự đạt tới độ dài khoảng 10 nucleotid thì cấu trúc ARN polymerase thay đổi, chuỗi σ bị phóng thích và giai đoạn khởi đầu kết thúc.



Hình 2.18. Khởi đầu phiên mã ở E. coli

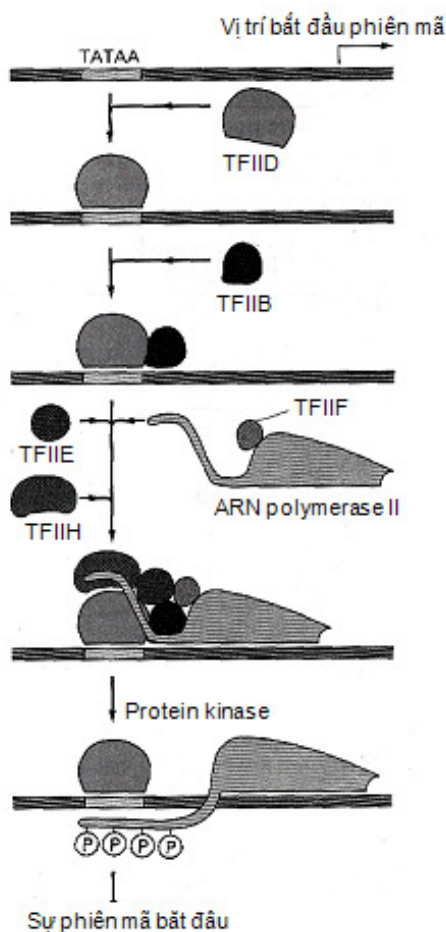
- Vùng phiên mã hình thành đoạn ADN ngắn không xoắn, phân tử lai ARN – ADN hình thành.
- Sự phiên mã tạo ra những vùng mã hóa. Siêu xoắn ADN dương (+) hình thành trước vùng phiên mã, siêu xoắn ADN âm (-) hình thành sau vùng phiên mã.

3.2.1.2. Giai đoạn kéo dài

Khi đã tạo thành phân tử lai ADN - ARN ở đoạn mở đầu, phần lõi enzym ARN polymerase gắn thêm một vài protein gọi là nhân tố kéo dài (elongation factor) và biến đổi thành phức hợp phiên mã

hoạt động. Quá trình tổng hợp ARN diễn ra bằng cách trùng hợp các ribonucleotid theo chiều 5'-3'. Kết quả phân tử ARN mới được hình thành.

3.2.1.3. Giai đoạn kết thúc



Hình 2.19. Tập hợp những yếu tố cần cho khởi đầu phiên mã của ARN polymerase II

Khi có mặt của yếu tố Rho (ρ) một protein đặc hiệu gắn vào ARN thì báo hiệu ngừng tổng hợp ARN.

Trong một số trường hợp không có mặt của yếu tố Rho sự kết thúc tổng hợp ARN là do trên phân tử ADN khuôn chứa tín hiệu kết thúc, đó là vùng có tỷ lệ base đặc trưng, khi nào gặp vùng này ARN polymerase dừng lại không xúc tác quá trình phiên mã nữa.

Kết quả: sợi ARN mới được tổng hợp tách khỏi ADN khuôn và hai sợi đơn ADN xoắn lại với nhau, phức hợp enzym ARN polymerase và yếu tố Rho được giải phóng để thực hiện chu kỳ mới.

Ở Prokaryota, mRNA vừa mới tổng hợp được sử dụng ngay lập tức để tổng hợp protein.

3.2.2. Sự phiên mã ở Eukaryota

Sự tổng hợp ARN ở Eukaryota có khác so với sự tổng hợp ARN ở Prokaryota. ở Prokaryota sự tổng hợp các loại ARN chỉ do một loại ARN polymerase đảm nhiệm, ở Eukaryota tổng hợp ARN có sự tham gia của ba loại ARN polymerase

ARN polymerase I ở trong hạch nhân xúc tác tổng hợp các rARN.

ARN polymerase II xúc tác tổng hợp ARN tiền thân của mARN và các ARN nhỏ ở trong nhân (tham gia vào quá trình thuần thực ARN).

ARN polymerase III chịu trách nhiệm tổng hợp những ARN tiền thân của ARN vận tải và ARN ribosom 5S và một số ARN nhỏ trong nhân khác.

Mỗi ARN polymerase có hai tiểu đơn vị lớn và 6 - 10 tiểu đơn vị nhỏ. Ví dụ: ARN polymerase II thực hiện phiên mã ở đa số các gen thuộc tế bào Eukaryota, enzyme này có hai tiểu đơn vị lớn có trọng lượng phân tử là 215 KDa và 139 KDa và những tiểu đơn vị nhỏ, số lượng những tiểu đơn vị nhỏ thì khác nhau ở những loài khác nhau, ví dụ: ở thực vật có 8, ở động vật có xương sống có 6. Một số những tiểu đơn vị nhỏ hơn ở ARN polymerase I và ARN polymerase II cũng khác với ARN polymerase ở Prokaryota. Những ARN polymerase ở Eukaryota không có khả năng tự khởi động phiên mã.

3.2.2.1. Vùng khởi đầu và quá trình khởi đầu phiên mã

Những trình tự vùng khởi đầu ở Eukaryota thì lớn hơn, phức tạp hơn và đa dạng hơn những trình tự vùng khởi đầu ở Prokaryota. Nhiều trình tự vùng khởi đầu cho ARN polymerase II chứa những trình tự TATA giống nhau gọi là "hộp TATA" hộp này nằm trước vị trí bắt đầu phiên mã khoảng 25 - 30 nucleotid.

Quá trình khởi đầu phiên mã được thực hiện như sau:

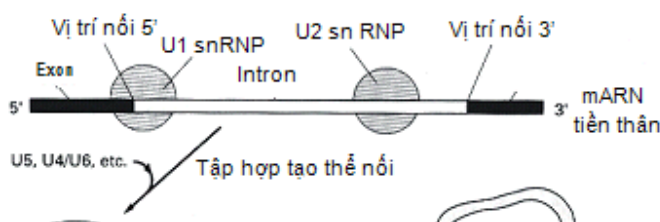
Trước khi ARN polymerase II bắt đầu phiên mã một gen, các yếu tố phiên mã (transcription factor = TF) có bản chất protein như TFIID gắn vào trình tự TATA. Tiếp theo là sự gắn yếu tố phiên mã TFIIB và tuần tự sau nữa là TFIIE, TFIIH và TFIIF gắn trực tiếp vào ARN polymerase II. Khi những phản ứng gắn gốc phosphat vào ARN polymerase II được xúc tác bởi TFIIH thì ARN polymerase II trở nên hoạt động và bắt đầu phiên mã. Hoạt động của vùng khởi đầu chịu ảnh hưởng bởi sự tương tác của yếu tố kích thích phiên mã với trình tự ADN (enhancer), khi yếu tố kích thích phiên mã gắn với trình tự ADN (enhancer) ở vùng khởi đầu sẽ làm tăng hiệu quả phiên mã của gen. Một gen riêng biệt có thể được kiểm soát hoạt động phiên mã bằng sự tương tác của những protein đặc hiệu với vị trí gắn tương ứng ở vùng khởi đầu (promotor).

3.2.2.2. Quá trình tạo mARN thuần thực



mARN tiền thân được hình thành sau phiên mã vẫn bao gồm các exon và các intron đã được phiên mã.

Ngay sau khi bắt đầu quá trình phiên mã, có sự biến đổi tại đầu 5' và 3' của ARN tiền thân. Tại đầu 5' của ARN tiền thân được gắn thêm cái "mũ" 7 methyl guanozin triphosphat. Cái mũ này về sau giữ vai trò quan trọng trong tổng hợp protein và bảo vệ bản sao ARN chống lại sự phân hủy. Tại đầu 3' đa số các bản sao được tổng hợp từ ARN polymerase II được thêm poly A nhờ enzyme poly A polymerase (thêm 100 - 200 acid adenylic (poly A) tại đầu cuối 3'). Đuôi poly A có chức năng giúp mARN di chuyển từ nhân ra bào tương và bảo vệ mARN trong quá trình dịch mã ở bào tương.



Quá trình tạo ARN thuần thực (mARN) từ ARN tiền thân thực chất là quá trình loại bỏ các intron và nối các exon đã được phiên mã trong ARN tiền thân lại với nhau nhờ sự xúc tác của thể nối (spliceosome). Thể nối được tạo thành từ một nhóm U1, U2, U4, U5, U6 snRNP và những thành phần khác. Thể nối cắt vị trí nối 5' rồi nối với nucleotid A gần vị trí nối 3' để hình thành một cái thòng lọng, rồi phức hợp các "thòng lọng intron" cùng thể nối bị giáng cấp trong nhân.

Kết quả các exon đã được phiên mã trong mARN tiền thân được nối với nhau và mARN thuần thực được tạo thành (xem hình 3.20).

4. ĐẶC ĐIỂM CỦA MÃ DI TRUYỀN

Năm 1964, người ta đã xác định rõ mã của tất cả 20 loại acid amin.

Mã có những đặc điểm sau:

- Mã là mã ba chữ (triplet) xếp cạnh nhau và thẳng hàng.
- Mã có tính chất thoái biến: nghĩa là một acid amin có thể được mã hóa bởi nhiều mã khác nhau, chỉ riêng tryptophan có một mã quy định.
- Nucleotid thứ ba trong mã là nucleotid dễ bị thay đổi nhưng tính chất của mã không bị thay đổi theo.
- Mã có tính chất chung cho mọi sinh vật (tính vạn năng).
- Có một mã mở đầu: AUG và ba mã kết thúc: UAG, UAA và UGA.

Bảng sau đây giới thiệu mã của tất cả các acid amin.

Bảng 2.4. Mã của các acid amin

Nucleotid I	Nucleotid II				Nucleotid III
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Stop	Stop	A
	Leu	Ser	Stop	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Phe (Phenylalanin)

Leu (Leucin)

Ile (Isoleucin)

Ser (Serin)

Tyr (Tyrosin)

His (Histidin)

Cys (Cystein)

Trp (Tryptophan)

Arg (Arginin)

Glu (acid
Glutamic)

Asp (acid Aspartic)

Met (Methionin)
Val (Valin)

Gln (Glutamin)
Asn (Asparagin)

Gly (Glycin)
Pro (Prolin)

Thr (Threonin)
Ala (Alanin)
Lys (Lysin)

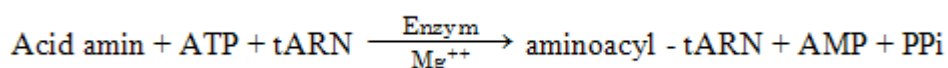
5. QUÁ TRÌNH SINH TỔNG HỢP PROTEIN

5.1. Sinh tổng hợp protein ở Prokaryota

Thông tin di truyền chứa trong gen được truyền đạt sang các phân tử ARN thông tin. Sau đó thông tin di truyền được truyền đạt từ mRNA tới phân tử protein nhờ quá trình dịch mã. Quá trình dịch mã được thực hiện qua bốn giai đoạn.

5.1.1. Hoạt hóa acid amin

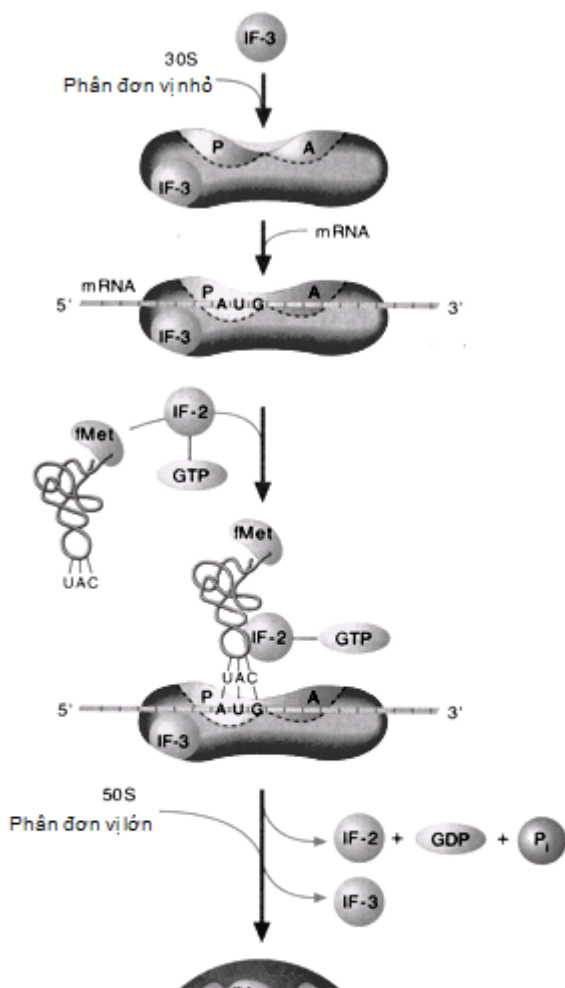
Các acid amin (aa) trong tế bào chất được hoạt hóa bởi enzym đặc hiệu là aminoacyl - tARN synthetase được biểu thị bằng phản ứng tổng hợp sau:



Enzym: aminoacyl - tARN synthetase

Aminoacyl - tARN synthetase có tính chất đặc hiệu cao với mỗi acid amin và tARN.

5.1.2. Giai đoạn mở đầu chuỗi polypeptid



Ở Prokaryota, sự tổng hợp của mọi protein đều bắt đầu với acid amin methionin nhưng dưới dạng N-formylmethionin (viết tắt là f-met). Ở Eukaryota, acid amin mở đầu cũng là methionin mã hóa bởi mã mở đầu AUG, acid amin mở đầu được vận chuyển bởi tARN ký hiệu là f-met – tARN.

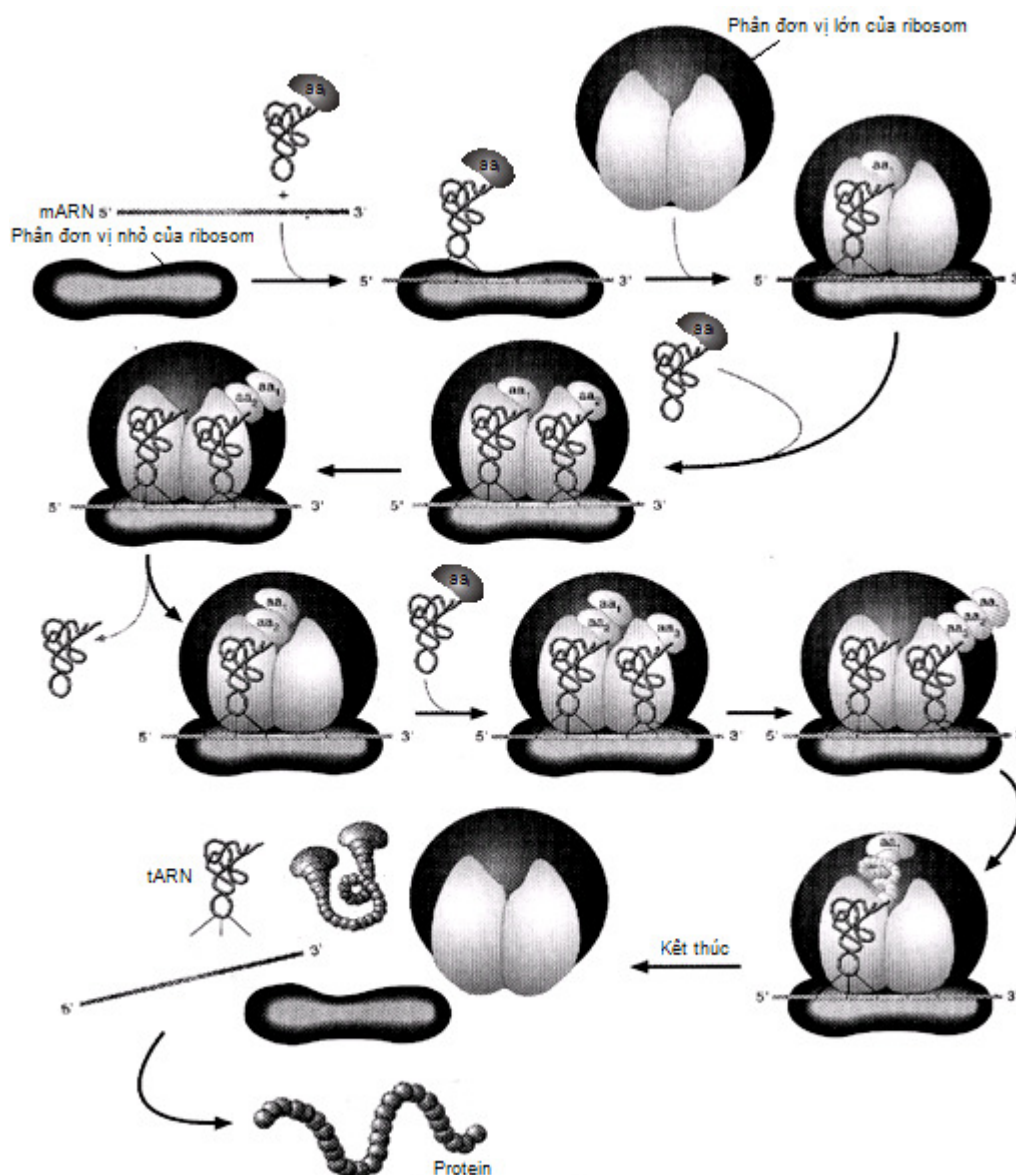
Quá trình mở đầu có sự tham gia của các yếu tố mở đầu IF1, IF2, IF3 (Initiation factor viết tắt là IF); các yếu tố mở đầu đều là các protein đặc hiệu.

Đầu tiên phân đơn vị 30S của ribosom kết hợp với yếu tố IF3, sau đó kết hợp với mARN. Bước tiếp theo f-met - tARN gắn với phức hợp IF2 - GTP (IF2 là một protein gắn với GTP) rồi gắn với phức hợp IF3 - ribosom 30S - mARN để tạo phức hợp mở đầu (IF2 có vai trò quan trọng phát hiện mã mở đầu AUG và tạo điều kiện để phức hợp f-met-tARN gắn vào vị trí P của ribosom). Giai đoạn mở đầu kết thúc khi phân tử GTP gắn với IF2 bị thủy phân thành GDP và Pi. GTP thủy phân gây nên sự thay đổi cấu trúc để cho đơn vị ribosom 50S gắn với tiểu đơn vị ribosom 30S thành ribosom 70S. Đồng thời yếu tố mở đầu IF2 và IF3 được phóng thích, vai trò của yếu tố mở đầu IF1 chưa được rõ.

5.1.3. Giai đoạn kéo dài chuỗi polypeptid

Giai đoạn kéo dài là quá trình lắp ráp các acid amin theo một trình tự nhất định đã được mã hóa ở mARN tạo thành chuỗi polypeptid đặc hiệu. Mã trên mARN được đọc theo hướng từ 5' đến 3'. Giai đoạn kéo dài có sự tham gia của các yếu tố kéo dài (Elongation factor viết tắt là EF). Giai đoạn kéo dài gồm 3 bước:

- Gắn aminoacyl - tARN vào vị trí A.
- Hình thành liên kết peptid.
- Chuyển vị.



Hình 2.22. Sơ đồ quá trình sinh tổng hợp protein

5.1.3.1. Gắn aminoacyl - tARN vào vị trí A: để aminoacyl - tARN thứ hai được định vị vào vị trí A, aminoacyl - tARN thứ hai trước tiên phải gắn với yếu tố kéo dài EF-Tu-GTP (yếu tố kéo dài EF-Tu là một protein gắn với GTP), GTP thủy phân làm phóng thích yếu tố kéo dài EF-Tu-GDP khỏi ribosom và aminoacyl-tARN thứ hai được gắn vào vị trí A của ribosom. Sự định vị aa₂-tARN tại vị trí A còn có sự tham gia của yếu tố kéo dài EF - Ts.

5.1.3.2. Sự tạo thành cầu nối peptid: sự hình thành liên kết peptid được xúc tác bởi peptidyl transferase, cầu nối peptid CO - NH được tạo thành giữa acid amin mở đầu và acid amin thứ hai, năng lượng cho phản ứng này là do liên kết ester năng lượng cao cung cấp. Cả hai acid amin gắn với tARN ở vị trí A, rồi tARN tại vị trí P được phóng thích khỏi ribosom.

5.1.3.3. Chuyển vị: Ribosom được di chuyển dọc theo mARN, mARN dịch chuyển một mã thếp theo vào vị trí A, tARN mang chuỗi peptid đang tổng hợp chuyển sang vị trí P. Trong quá trình chuyển vị có sự tham gia của một loại yếu tố kéo dài khác có tên là EF - G - GTP (EF - G bản chất là một protein gắn với GTP). GTP thủy phân gây thay đổi cấu hình của ribosom làm chuyển peptidyl - tARN

từ vị trí A sang vị trí P. Vị trí A trống, aminoacyl – tARN mới lại gắn vào vị trí A. Quá trình kéo dài chuỗi polypeptid cứ tiến hành như vậy cho tới khi mã kết thúc vào vị trí A.

5.1.4. Giai đoạn kết thúc

Giai đoạn kết thúc bắt đầu khi một trong ba mã kết thúc UAA, UAG hoặc UGA ở vị trí A do đó không cho phép aminoacyl – tARN vào vị trí A nữa.

Giai đoạn kết thúc còn có sự tham gia của yếu tố giải phóng RF1, RF2, RF3 (Release factor viết tắt là RF). Mã UAA và UAG được nhận ra bởi yếu tố giải phóng RF1, còn mã UAA và UGA được nhận ra bởi yếu tố giải phóng RF2, vai trò của RF3 thì chưa rõ; có thể nó kích thích hoạt động của RF1 và RF2. Quá trình nhận ra này được thực hiện nhờ sự thủy phân GTP kết quả gây nên sự biến đổi trong ribosom, enzym peptidyl transferase thủy phân liên kết nối chuỗi peptid đầy đủ và tARN ở vị trí P để phóng thích chuỗi peptid. Sự dịch mã kết thúc khi mARN tách khỏi ribosom và ribosom phân tách thành những phân đơn vị lớn và nhỏ.

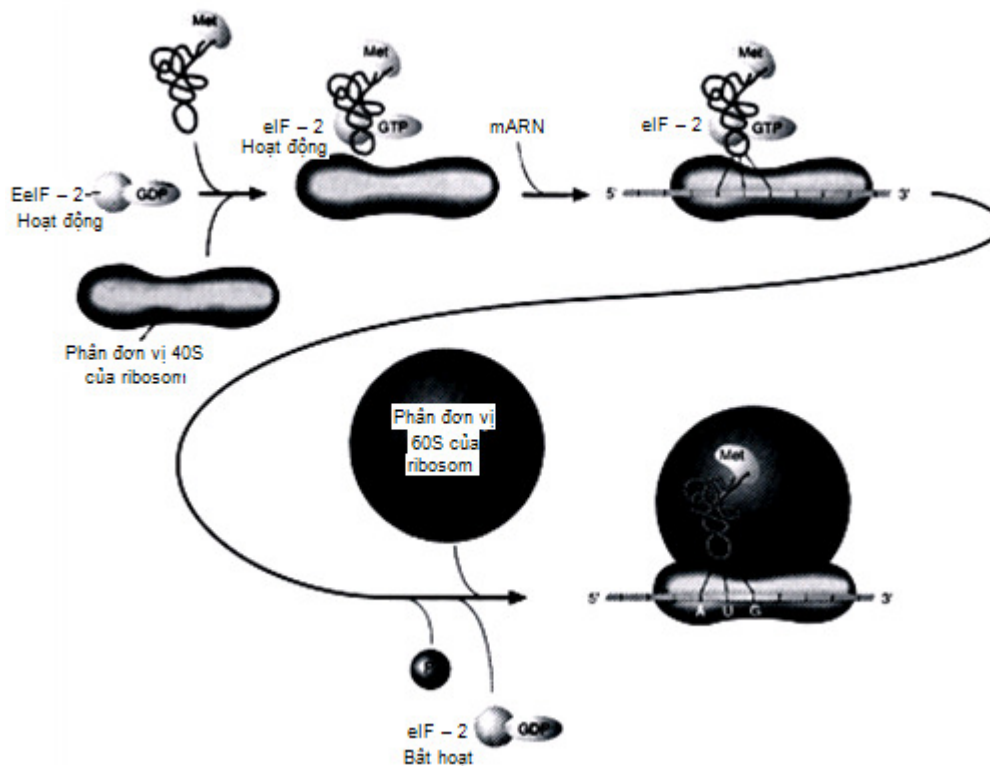
5.2. Sinh tổng hợp protein ở Eukaryota

Quá trình tổng hợp protein ở Eukaryota tương tự như ở Prokaryota chỉ khác là ribosom ở Eukaryota gồm hai phân đơn vị: 40S và 60S.

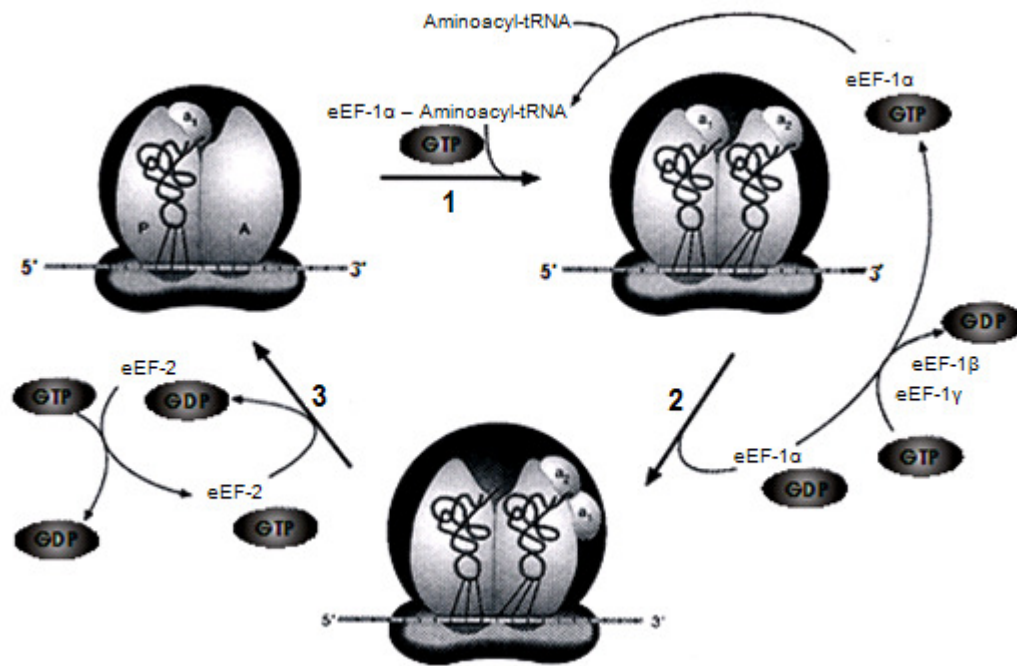
Giai đoạn mở đầu chuỗi polypeptid có sự tham gia của yếu tố mở đầu

eIF-2 (một protein gắn GTP), acid amin mở đầu là methionin.

Sự dịch mã theo chiều 5' → 3' trên mARN.



Hình 2.23. Sự hình thành phức hợp mở đầu tổng hợp protein ở Eukaryota



Hình 2.24. Giai đoạn kéo dài trong quá trình dịch mã ở Eukaryota

1. Gắn aminoacyl tARN vào vị trí A.
2. Hình thành liên kết peptid; 3. Chuyển vị

Giai đoạn kéo dài có sự tham gia của yếu tố kéo dài eEF-1 α ; eEF-1 β ; eEF-1 γ với năng lượng GTP.

Giai đoạn chuyển vị có sự tham gia của yếu tố kéo dài eEF-2 và năng lượng GTP.

Giai đoạn kết thúc: ở tế bào Eukaryota kết thúc quá trình tổng hợp chuỗi peptid được tiến hành nhờ sự tham gia của yếu tố giải phóng eRF (một protein gắn GTP). Mã kết thúc ở Eukaryota cũng giống như ở Prokaryota là UAG, UGA hoặc UAA.

6. CÁC CƠ CHẾ ĐIỀU CHỈNH QUÁ TRÌNH SINH TỔNG HỢP PROTEIN

Sự tạo thành protein ở trong cơ thể sinh vật được điều chỉnh để cơ thể có số lượng và chất lượng protein phù hợp với sự phát triển của cơ thể sinh vật.

6.1. Điều chỉnh sinh tổng hợp protein ở Prokaryota

Sự điều chỉnh sinh tổng hợp protein ở Prokaryota được thực hiện qua hai cơ chế: kích thích và kìm hãm.

- Ví dụ về hiện tượng kích thích

Vi khuẩn *E. coli* khi phát triển trong môi trường có lactose thì enzym beta galactoxidase được tổng hợp mạnh, nhưng khi phát triển trong môi trường không có lactose thì sự tổng hợp beta galactoxidase giảm xuống nhiều. Như vậy lactose là tác nhân kích thích sản xuất enzym.

- Ví dụ về hiện tượng kìm hãm

Vi khuẩn *E. coli* khi phát triển trong môi trường không có tryptophan thì *E. coli* sẽ tăng sản xuất một loạt enzym chịu trách nhiệm tổng hợp tryptophan, nhưng khi phát triển trong môi trường có tryptophan thì hàm lượng các enzym của hệ thống tryptophan synthetase được tổng hợp giảm đi. Như vậy tryptophan là tác nhân kìm hãm sự tổng hợp enzym.

6.1.1. Mô hình operon

Mô hình operon điều chỉnh sinh tổng hợp protein được Jacob và Monod đề xuất, sau này được bổ sung.

Mô hình điều chỉnh sinh tổng hợp protein ở Prokaryota bao gồm các thành phần:

6.1.1.1. Gen cấu trúc (Ct hay cistron)

Trên nhiễm sắc thể có các gen cấu trúc, các gen này tạo ra các mARN, rồi tổng hợp nên các enzym.

Ví dụ: gen cấu trúc Ct_1 , Ct_2 , Ct_3 ... tổng hợp nên các enzym tương ứng E_1, E_2, E_3 ... các enzym này xúc tác cho chuyển hóa vật chất ở những khâu xác định.

6.1.1.2. Vùng khởi đầu hay promotor (Pr)

Vùng khởi đầu là một đoạn ADN nằm kề với gen cấu trúc. Tại vùng khởi đầu có trình tự nucleotid, trình tự này được nhận diện bởi ARN polymerase để xác định vị trí khởi đầu sự phiên mã.

6.1.1.3. Vị trí vận hành (operator viết tắt là O)

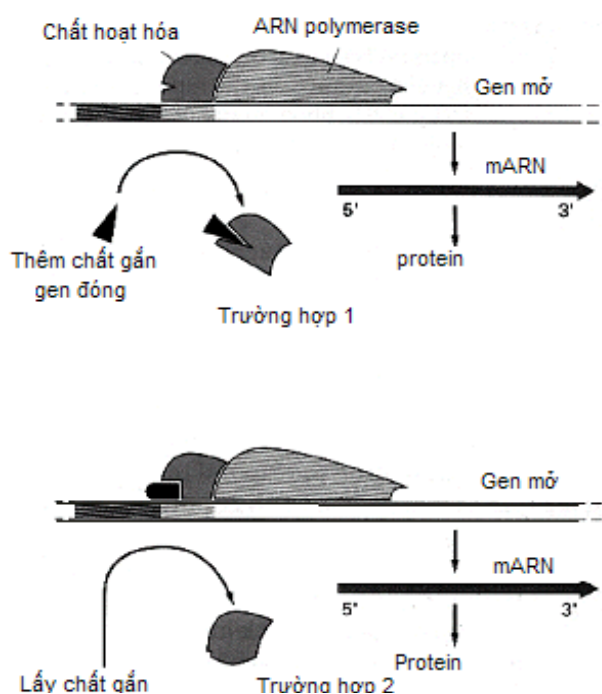
Vị trí vận hành thường có mặt trong vùng khởi đầu, khi vị trí vận hành tự do không bị kìm hãm thì nó cho phép ARN polymerase gắn với vùng khởi đầu và hệ thống các gen cấu trúc ở trạng thái mở sản xuất ra các mARN và các enzym tương ứng. Trái lại khi vị trí vận hành đã liên kết với chất kìm hãm thì ngăn cản ARN polymerase không cho vào, do vậy gen cấu trúc ở trạng thái đóng.

Các gen cấu trúc, vùng khởi đầu và vị trí vận hành của vùng khởi đầu tạo thành một đơn vị gọi là operon.

6.1.1.4. Gen điều chỉnh (Regulator viết tắt là Re)

Gen điều chỉnh có thể cùng nằm trên một nhiễm sắc thể với gen cấu trúc như ở Prokaryota hoặc nằm trên nhiễm sắc thể khác như ở Eukaryota. Gen điều chỉnh tổng hợp một loại protein làm nhiệm vụ kìm hãm hoạt động của gen cấu trúc gọi là chất kìm hãm (ký hiệu chữ R: Repressor) hoặc một loại protein có nhiệm vụ hoạt hóa gen gọi là chất hoạt hóa (ký hiệu chữ A: Activator).

6.1.2. Hoạt động của operon trong cơ chế kích thích (positive regulation)



Trong cơ chế kích thích, gen điều chỉnh sản xuất ra một protein hoạt hóa (activator protein) còn gọi là chất hoạt hóa. Khi chất hoạt hóa gắn với vị trí vận hành, đồng thời ARN polymerase gắn với vùng khởi đầu do đó gen cấu trúc ở trạng thái mở để sản xuất ra mARN và các sản phẩm protein hoặc enzym tương ứng.

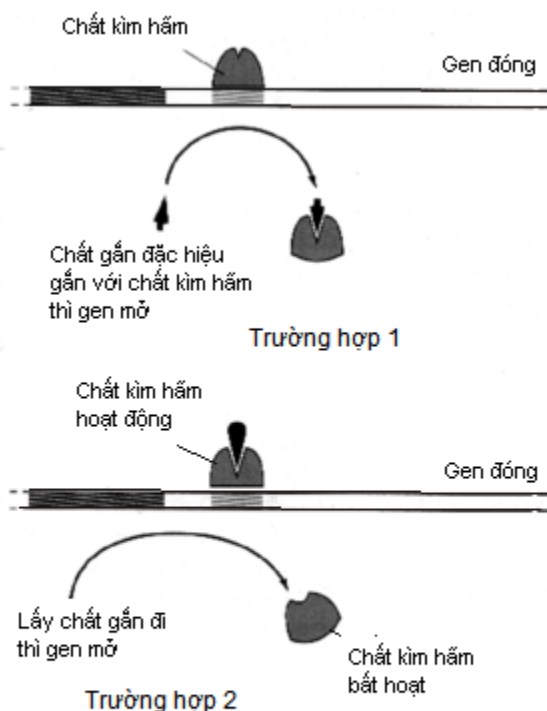
Hoạt động của operon trong cơ chế kích thích có hai trường hợp:

6.1.2.1. Trường hợp 1: chất hoạt hóa ở trạng thái hoạt động gắn với vị trí vận hành, đồng thời ARN polymerase gắn với vùng khởi đầu do đó gen cấu trúc ở trạng thái mở để sản xuất ra mARN và các sản phẩm protein hoặc enzym tương ứng.

Khi có mặt một chất gắn đặc hiệu, chất gắn này gắn với chất hoạt hóa làm cho chất hoạt hóa rời khỏi vị trí vận hành do đó gen cấu trúc ở trạng thái đóng.

6.1.2.2. Trường hợp 2: chất hoạt hóa ở trạng thái không hoạt động. Nhưng khi có mặt chất gắn đặc hiệu gắn với chất hoạt hóa thì chất hoạt hóa trở thành hoạt động gắn với vị trí vận hành, đồng thời ARN polymerase gắn với vùng khởi đầu do đó gen cấu trúc ở trạng thái mở sản xuất ra mARN và protein tương ứng. Khi chất gắn đặc hiệu bị lấy đi khỏi chất hoạt hóa thì chất hoạt hóa trở thành không hoạt động rời khỏi vị trí vận hành và gen cấu trúc ở trạng thái đóng.

6.1.3. Hoạt động của operon trong cơ thể kìm hãm(negative regulation)



Hình 2.26. Cơ chế kìm hãm

Chất kìm hãm gắn vào vị trí vận hành
ngăn cản quá trình phiên mã

Trong cơ chế kìm hãm, gen điều chỉnh sản xuất ra một protein kìm hãm gọi là chất kìm hãm. Khi chất kìm hãm gắn với vị trí vận hành thuộc vùng khởi đầu của gen cấu trúc thì gen cấu trúc ở trạng thái đóng.

Hoạt động của operon trong cơ chế kìm hãm có hai trường hợp:

6.1.3.1. Trường hợp 1: chất kìm hãm ở trạng thái hoạt động gắn với vị trí vận hành của gen cấu trúc do đó gen cấu trúc ở trạng thái đóng. Khi có mặt của chất gắn đặc hiệu gắn với chất kìm hãm thì chất

kìm hãm này rời khỏi vị trí vận hành do đó vị trí này được giải phóng do đó gen cấu trúc mở phiên mã ra mARN và tổng hợp các protein tương ứng.

6.1.3.2. Trường hợp 2: chất kìm hãm ở trạng thái không hoạt động (inactive repressor) do đó vị trí vận hành tự do, gen cấu trúc ở trạng thái mở. Khi có mặt một chất gắn đặc hiệu gắn với chất kìm hãm làm cho chất kìm hãm trở nên hoạt động gắn với vị trí vận hành thuộc vùng khởi đầu của gen do đó gen cấu trúc ở trạng thái đóng.

6.2. Điều chỉnh sinh tổng hợp protein ở Eukaryota

6.2.1. Mục đích điều chỉnh sinh tổng hợp protein ở Eukaryota

Sự điều chỉnh sinh tổng hợp protein ở Eukaryota còn gọi là điều chỉnh sự biểu hiện của gen ở Eukaryota. Ở Eukaryota sự điều chỉnh sinh tổng hợp protein có nhiều điểm khác so với Prokaryota cả về tín hiệu cũng như cơ chế điều chỉnh.

Mỗi cơ thể Eukaryota đều bắt nguồn từ một tế bào hợp tử, hợp tử trải qua nhiều lần phân cắt để tạo nhiều phôi bào, các phôi bào được biệt hóa thành mô và các cơ quan của một cơ thể đa bào.

Tất cả các tế bào Eukaryota của cùng một cơ thể sinh vật đều chứa đựng một bộ gen giống nhau, nhưng trong tế bào của mỗi mô chỉ có một tỷ lệ nhỏ những gen liên quan được biểu hiện để tạo nên những protein đặc hiệu của nó, ví dụ: hồng cầu tổng hợp hemoglobin, tế bào cơ tổng hợp myoglobin, tế bào tuyến tụy tổng hợp insulin, tế bào các tuyến nội tiết tổng hợp các hormon. Ngay trong một loại tế bào tùy theo giai đoạn phát triển của cơ thể có thể tổng hợp các loại protein khác nhau, ví dụ: hồng cầu ở giai đoạn bào thai tổng hợp HbF, nhưng ở giai đoạn trưởng thành tổng hợp HbA, với cùng một loại protein có khi được tổng hợp nhiều, có khi được tổng hợp ít, thậm chí không được tổng hợp. Vấn đề này được giải thích bởi cơ chế điều chỉnh sự biểu hiện gen ở Eukaryota.

Tín hiệu điều chỉnh ở các cơ thể đa bào (Eukaryota) là các phân tử protein được sản xuất từ những tế bào chuyên biệt theo cơ chế thể dịch lưu thông khắp cơ thể, các phân tử này tác động vào nhóm những tế bào “đích”, điều chỉnh biểu hiện các gen liên quan ở các tế bào này thông qua sự tương tác đặc hiệu giữa ADN - protein, cùng với phức hợp ARN polymerase và những protein đặc hiệu khác làm cho các gen liên quan mở hay đóng theo đúng chương trình đã định sẵn để phù hợp với sự phát triển của toàn cơ thể và sản xuất protein tăng hay giảm theo yêu cầu của cơ thể. Các phân tử điều hòa có bản chất là protein có thể là các yếu tố sinh trưởng GF (Growth Factors), các hormon, các yếu tố đặc hiệu mô.

Điều chỉnh sự biểu hiện gen ở Eukaryota qua nhiều bước từ ADN → mARN tiền thân → ARN → protein.

6.2.2. Mô hình cấu trúc của một gen Eukaryota

6.2.2.1. Gen cấu trúc

Gen cấu trúc quy định tổng hợp một loại protein xác định. Gen cấu trúc gồm các exon và intron. Các exon là những đoạn ADN có khả năng phiên mã để tổng hợp protein, các intron là những đoạn ADN có khả năng phiên mã nhưng không tham gia mã hóa tổng hợp protein. Tại vị trí đầu tiên của exon 1 là mã mở đầu ATG, tại vị trí cuối của exon cuối cùng là một trong ba mã kết thúc TAA, TGA hoặc TAG. Phía trước exon đầu tiên và phía sau exon cuối cùng có vùng không dịch mã. Vị trí 5'GT của intron là vị trí cho nối và vị trí 3'AG của intron là vị trí nhận nối. Các exon và intron sẽ phiên mã thành mARN tiền thân, mARN tiền thân trải qua quá trình cắt intron đã được phiên mã từ ADN và nối các

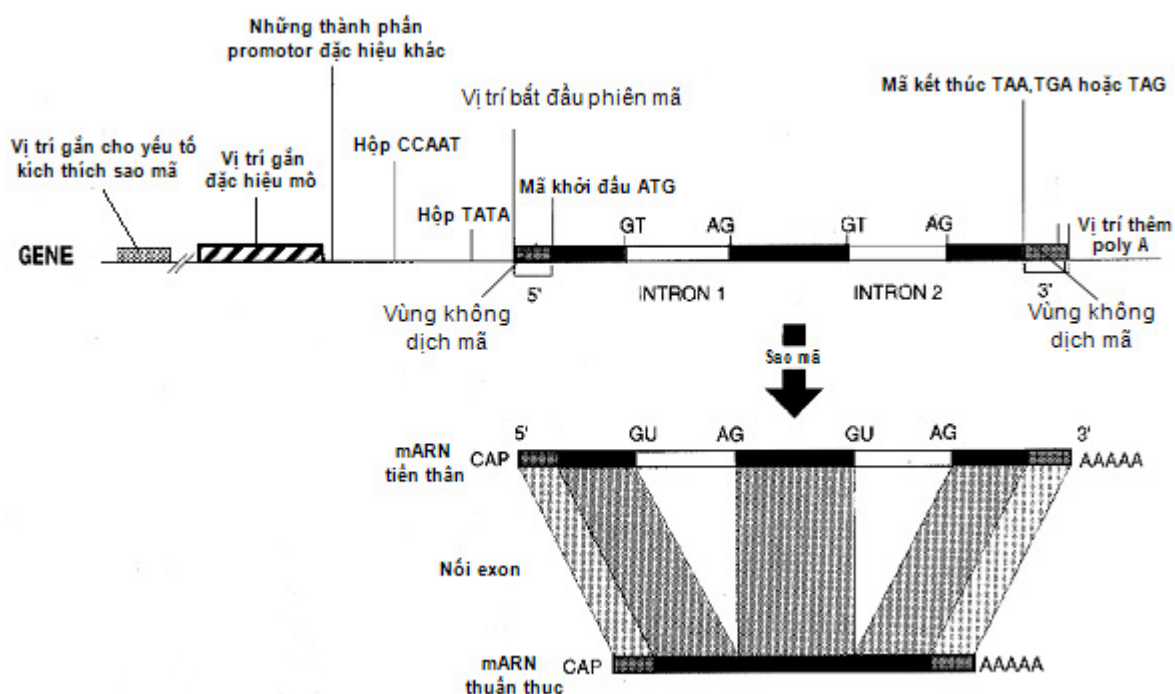
exon đã được phiên mã từ ADN lại với nhau để tạo mARN trưởng thành.

6.2.2.2. Vùng kiểm soát biểu hiện gen

Vùng kiểm soát biểu hiện gen gồm các thành phần sau:

- Vùng khởi đầu: là những thành phần gồm các trình tự nucleotid được định khu ở đầu 5' tới gen. Vùng khởi đầu có chức năng xác định vị trí bắt đầu phiên mã, kiểm soát số lượng mARN và tính đặc hiệu mô. Vùng khởi đầu có thể dài vài kilobase. Đa số các gen của người đều chứa trình tự "hộp TATA" được định khu khoảng 25 - 30 đôi base từ đầu 5' tới vị trí bắt đầu phiên mã và "hộp CCAAT" được định khu 75 - 80 cặp base từ đầu 5' tới vị trí bắt đầu phiên mã, "hộp" này có chức năng làm tăng hiệu quả phiên mã.
- Vị trí gắn cho yếu tố kích thích phiên mã (enhancer): là trình tự ADN tác động với yếu tố kích thích phiên mã làm tăng quá trình phiên mã của những gen kề bên, vị trí này có thể hoạt động theo hướng 5' hoặc 3' tới gen.
- Vị trí gắn cho yếu tố đặc hiệu mô: là trình tự ADN tương tác với protein đặc hiệu mô để chỉ huy gen cấu trúc sản xuất ra protein đặc hiệu tương ứng với từng mô.
- Vị trí bắt đầu phiên mã: là vị trí mà quá trình phiên mã được bắt đầu tại điểm đó, vị trí này còn gọi là "cap site".
- Vị trí gắn cho những thành phần đặc hiệu promotor khác: là trình tự ADN tương tác đặc hiệu với các yếu tố đặc hiệu khác làm nhiệm vụ điều hòa gen.

6.2.2.3. Vùng 3' của gen



Hình 2.27. Mô hình cấu trúc và biểu hiện gen Eukaryota

Vùng ở đầu 3' của gen. Vùng này có vị trí gắn thêm polyadenin tại đầu cuối 3' của gen (khoảng 200 adenin) còn gọi là đuôi poly A. Đuôi poly A có chức năng giúp mARN di chuyển từ nhân ra tế bào chất và bảo vệ mARN trong quá trình dịch mã tạo ra sản phẩm protein.

6.2.3. Các bước điều chỉnh biểu hiện gen ở Eukaryota

Điều chỉnh hoạt động gen ở Eukaryota là một quá trình tương tác đặc hiệu giữa các vị trí gắn đặc hiệu của vùng khởi đầu của một gen với phức hợp ARN polymerase, các nhân tố phiên mã chung cùng các protein đặc hiệu điều hòa gen (có thể có cả yếu tố đặc hiệu mô). Tùy từng trường hợp mà gen ở trạng thái đóng hay mở, tăng hoặc giảm quá trình phiên mã để tổng hợp nên protein đặc hiệu mô tương ứng với số lượng và chất lượng phù hợp theo giai đoạn phát triển cơ thể.

Biểu hiện gen ở Eukaryota được điều chỉnh qua nhiều bước từ ADN đến mARN và protein.

Một tế bào có thể thay đổi biểu hiện gen của nó trong sự đáp ứng với những tín hiệu điều chỉnh.

Biểu hiện gen ở Eukaryota có thể được điều chỉnh bởi sáu bước.

Bước 1: quá trình phiên mã từ gen tạo ra mARN tiền thân được điều chỉnh bởi yếu tố kiểm soát phiên mã, yếu tố này cho phép gen được phiên mã khi nào và được phiên mã thế nào.

Bước 2: từ mARN tiền thân tạo thành mARN thuần thực được điều chỉnh nhờ yếu tố kiểm soát quá trình thuần thực hóa ARN.

Bước 3: quá trình vận chuyển mARN thuần thực từ nhân tới tế bào chất nhờ yếu tố kiểm soát vận chuyển ARN.

Bước 4: những mARN trong tế bào chất được dịch mã thành protein bởi các ribosom nhờ yếu tố kiểm soát dịch mã.

Bước 5: một số phân tử mARN trong tế bào chất được giáng cấp nhờ yếu tố kiểm soát giáng cấp.

Bước 6: những phân tử protein được tổng hợp trở thành hoạt hóa hay bất hoạt nhờ yếu tố kiểm soát hoạt tính protein.

Các bất thường trong bước nào của con đường từ ADN → mARN → protein đều dẫn đến bệnh gọi là bệnh phân tử.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày các bằng chứng chứng minh acid nucleic là cơ sở vật chất của hiện tượng di truyền.
2. Nêu đặc điểm của ADN.
3. Nêu đặc điểm của bộ gen.
4. Trình bày cấu trúc và chức năng của ARN vận chuyển (tARN), ARN thông tin (mARN), ARN ribosom (rARN) và ARN nhỏ trong nhân (small nuclear ARN).
5. Mô tả quá trình tái bản ADN.
6. Trình bày quá trình phiên mã ở Prokaryota.
7. So sánh quá trình phiên mã ở Eukaryota và Prokaryota.
8. Trình bày quá trình sinh tổng hợp protein ở Prokaryota.
9. Trình bày mô hình Operon và hoạt động của Operon trong cơ chế kích thích sinh tổng hợp protein ở prokaryota.
10. Trình bày mô hình Operon và hoạt động của Operon trong cơ chế kìm hãm sinh tổng hợp protein ở prokaryota.
11. Nêu đặc điểm của mã di truyền.
12. Trình bày mô hình cấu trúc của một gen ở Eukaryota.

13. Trình bày các bước điều hòa biểu hiện gen ở Eukaryota.

Bài 10 ĐỘT BIẾN

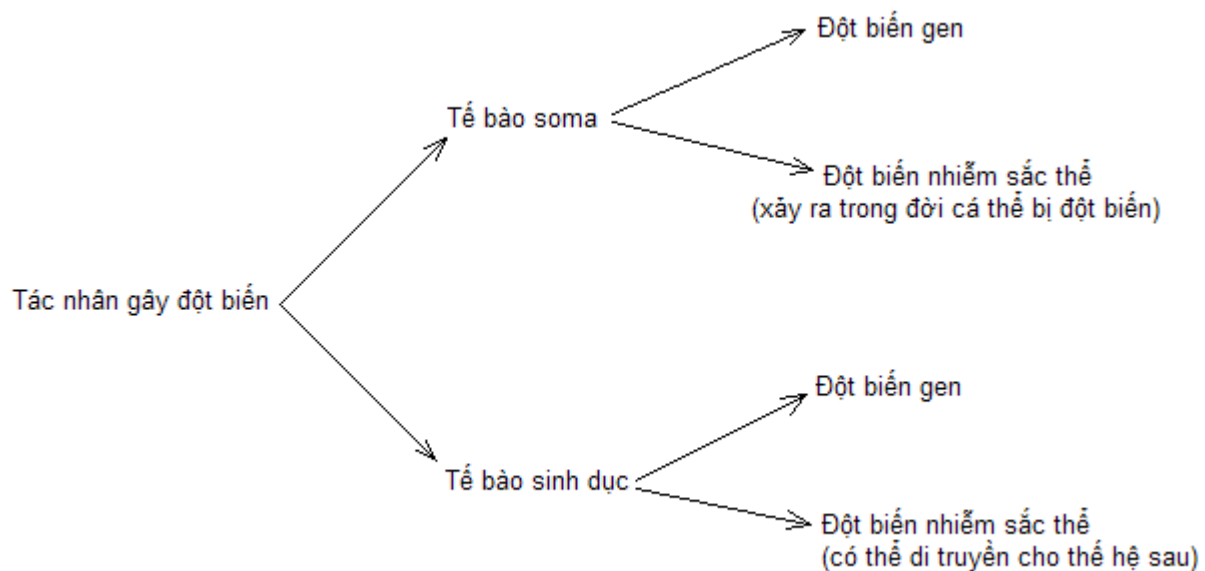
MỤC TIÊU

1. Trình bày được định nghĩa, cơ chế, phân loại đột biến nhiễm sắc thể
2. Trình bày được cơ chế, phân loại đột biến gen

1. KHÁI NIỆM ĐỘT BIẾN

Mỗi loài sinh vật có một bộ nhiễm sắc thể đặc trưng về số lượng, hình thái và cấu trúc. ở Eukaryota, nhiễm sắc thể được cấu tạo bởi ADN và histon.

Số lượng, hình thái và cấu trúc của nhiễm sắc thể thường bền vững và ổn định qua các thế hệ tế bào hoặc thế hệ cơ thể. Tuy nhiên, do sự tác động của một số tác nhân vật lý, hóa học hoặc sinh học, trong một số trường hợp số lượng, hình thái và cấu trúc của nhiễm sắc thể có thể bị biến đổi, sự biến đổi đó có thể biểu hiện ở mức độ nhiễm sắc thể hoặc ở mức độ gen. Đột biến có thể xảy ra ở tế bào soma hoặc ở tế bào sinh dục. Có thể tóm tắt các dạng đột biến như sau:



Phần lớn đột biến sau khi xảy ra được tự sửa chữa để trở lại trạng thái bình thường, một số không được sửa chữa có thể dẫn đến những biến đổi của kiểu hình ở những mức độ khác nhau. Phần này trình bày chủ yếu một số cơ chế dẫn đến đột biến còn phần hậu quả của đột biến sẽ được trình bày trong Di truyền Y học.

Đột biến là một dạng của biến dị di truyền được.

2. ĐỘT BIẾN NHIỄM SẮC THỂ

Đột biến nhiễm sắc thể gồm hai loại: đột biến số lượng nhiễm sắc thể và đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể. Để minh họa cho các dạng nhiễm sắc thể, chúng tôi dùng bộ nhiễm sắc thể của người làm ví dụ để minh họa. Bộ nhiễm sắc thể ở tế bào sinh dưỡng của người có 23 cặp nhiễm sắc thể, trong đó có 22 cặp nhiễm sắc thể thường và một cặp nhiễm sắc thể giới tính (XX ở nữ, XY ở nam).

2.1. Đột biến số lượng nhiễm sắc thể

Đột biến số lượng nhiễm sắc thể gồm hai dạng: đa bội (polyploidy) và lệch bội (aneuploidy).

2.1.1. Đa bội

Trong các tế bào sinh dưỡng của thể đa bội, bộ nhiễm sắc thể lớn hơn $2n$ do bộ nhiễm sắc thể được tăng một số chẵn hoặc lẻ lần, ví dụ: $3n$, $4n$...

2.1.1.1. Cơ chế gây đa bội

Có ba cơ chế có thể dẫn đến hiện tượng đa bội:

- Thụ tinh của các giao tử bất thường

Bình thường, sau hai lần phân chia của quá trình giảm phân, mỗi giao tử được tạo thành chứa bộ nhiễm sắc thể đơn bội (n). Đôi khi, vì một nguyên nhân nào đó, các nhiễm sắc thể không phân ly, cả hai bộ nhiễm sắc thể đi vào một giao tử, tạo nên giao tử bất thường chứa $2n$ nhiễm sắc thể.

Thụ tinh của một giao tử bình thường (n) với một giao tử bất thường ($2n$) tạo hợp tử tam bội ($3n$).

Thụ tinh của hai giao tử, cả hai đều bất thường ($2n$) tạo hợp tử tứ bội ($4n$).

- Sự phân chia bất thường của hợp tử

Đôi khi trong các lần phân chia sớm bộ nhiễm sắc thể $2n$ của hợp tử nhân đôi nhưng tế bào chất không phân chia theo nên hình thành các tế bào $4n$, sau đó các tế bào này tiếp tục phân chia tạo nên các phôi bào $4n$, phát triển thành cơ thể tứ bội ($4n$).

Trong các lần phân chia sớm của hợp tử $2n$ có sự phân chia không đồng đều nhiễm sắc thể tạo thành phôi bào có n và phôi bào $3n$ nhiễm sắc thể. Phôi bào có n nhiễm sắc thể bị tiêu biến còn phôi bào $3n$ phát triển thành cơ thể tam bội.

Hợp tử $3n$ phân chia theo ba cực cho ba phôi bào khác nhau: n , $2n$, $3n$. Phôi bào n bị tiêu vong còn hai phôi bào sau phát triển thành cơ thể khảm $2n/3n$.

Hợp tử $4n$ phân chia theo ba cực tạo thành cơ thể $2n/3n$.

- Sự thụ tinh kép hoặc sự xâm nhập của tế bào cực

Sự thụ tinh kép: một trứng bình thường (n) thụ tinh với hai trùng bình thường (n) cho hợp tử $3n$.

Sự xâm nhập của tế bào cực vào một phôi bào ở giai đoạn hai phôi bào tạo thành cơ thể khảm $2n/3n$.

2.1.1.2. Hiện tượng đa bội ở sinh giới

Hiện tượng đa bội thường gặp ở thực vật hoang dại cũng như cây trồng. Các cây đa bội thường có kích thước lớn hơn cây lưỡng bội. Người ta đã dùng hóa chất (colchicin, vinblastin) hoặc sốc nhiệt độ cao hoặc thấp để gây đa bội ở thực vật.

Ở động vật hiếm gặp các trường hợp đa bội; ở nhiều loài động vật các phôi thai đa bội thường chết ở giai đoạn trước sinh.

Ở người, các trường hợp đa bội lại càng hiếm, phần lớn phôi thai đa bội chết ở giai đoạn trước sinh, một vài trường hợp sống đến khi đẻ hoặc sau sinh nhưng hầu hết là các sơ sinh bị dị tật.

2.1.1.3. Hiện tượng đa bội nội sinh

Đa bội nội sinh là hiện tượng các nhiễm sắc thể đã nhân lên mà tế bào chất không phân chia, từ tế bào $2n$ hình thành thành tế bào $4n$, 4 nhiễm sắc thể cùng cặp vẫn xếp cạnh nhau. ở thực vật cũng như động vật đều có thể gặp đa bội nội sinh. ở người, đa bội nội sinh đôi khi gặp ở tế bào lympho nuôi cấy hoặc ở các mô ung thư.

2.1.2. Lệch bội

Lệch bội là hiện tượng số lượng nhiễm sắc thể của tế bào tăng lên hoặc giảm đi một hoặc vài nhiễm sắc thể so với bộ nhiễm sắc thể lưỡng bội.

2.1.2.1. Các dạng lệch bội:

- Thể không: $2n - 2$: thiếu cả hai nhiễm sắc thể của một loại nhiễm sắc thể nào đó.
- Thể đơn (monosomi): $2n - 1$: thiếu một nhiễm sắc thể của một loại nhiễm sắc thể nào đó, ví dụ: 45,X.
- Thể ba (trisomi): $2n + 1$: có thêm một nhiễm sắc thể thuộc một loại nhiễm sắc thể nào đó, ví dụ: 47,XXY, hoặc 47,XX,+21.
- Thể đa (polysomi): $2n + 2$ hoặc $2n + 3 \dots$ có thêm hai hoặc ba nhiễm sắc thể của cùng một loại nhiễm sắc thể, ví dụ: 48,XXXY hoặc thể 3 kép, ví dụ: 48,XXX,+18 (tế bào có ba nhiễm sắc thể giới tính X và 3 nhiễm sắc thể số 18).
- Thể khảm: trong cùng một cơ thể có hai hoặc ba dòng tế bào chứa hai hoặc ba loại karyotyp khác nhau, ví dụ: 46,XX/47,XX,+21.

2.1.2.2. Cơ chế gây lệch bội

- Nhiễm sắc thể không phân ly trong giảm phân

Trong quá trình giảm phân, nếu có một cặp nhiễm sắc thể nào không phân ly nhau mà cùng đi vào một giao tử sẽ tạo thành các giao tử lệch bội: có giao tử thừa một nhiễm sắc thể, có giao tử thiếu một nhiễm sắc thể. Các giao tử lệch bội khi thụ tinh sẽ hình thành hợp tử lệch bội.

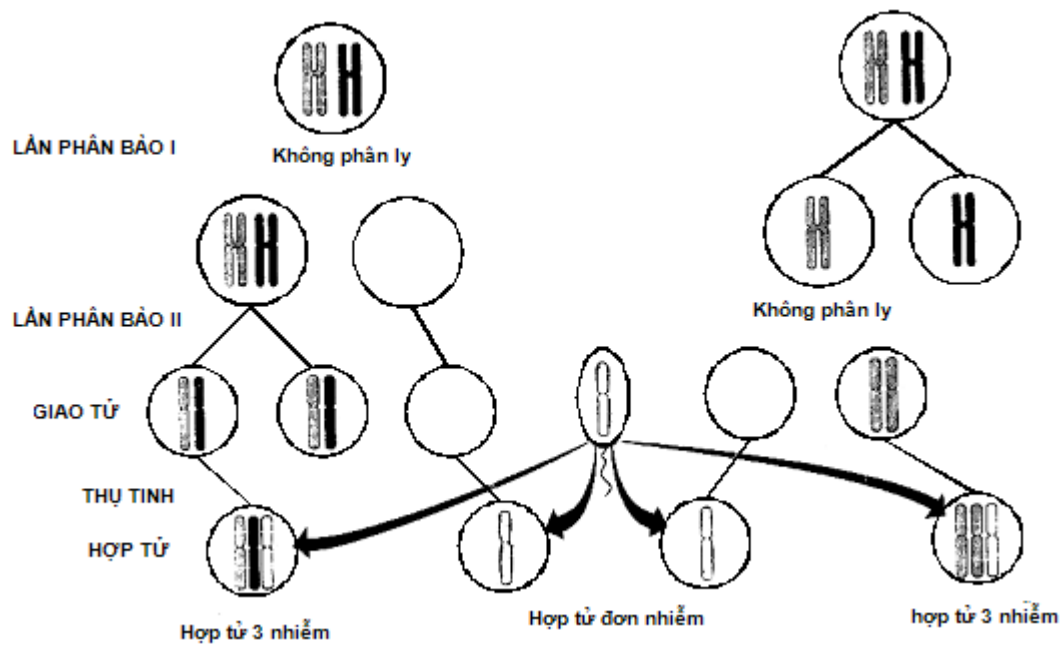
Hiện tượng không phân ly trong quá trình giảm phân có thể xảy ra trong quá trình tạo tinh hoặc tạo trứng, xảy ra ở lần phân bào thứ nhất hoặc thứ hai, có thể xảy ra với nhiễm sắc thể thường hoặc nhiễm sắc thể giới tính.

- Nhiễm sắc thể không phân ly trong quá trình phân cắt của hợp tử

Nếu hiện tượng không phân ly xảy ra ở lần phân cắt thứ nhất của hợp tử, hai phôi bào khác nhau được tạo thành: một có 47 nhiễm sắc thể, một có 45 nhiễm sắc thể. Hai phôi bào này tiếp tục phân chia tạo nên cơ thể có hai dòng tế bào lệch bội 47/45. Nếu dòng tế bào có 45 nhiễm sắc thể không có khả năng sống, cơ thể chỉ có một dòng tế bào có 47 nhiễm sắc thể.

+ Nếu hiện tượng không phân ly xảy ra ở lần phân cắt thứ hai của hợp tử sẽ tạo ra ba dòng tế bào 47/46/45. Nếu dòng tế bào có 45 nhiễm sắc thể không có khả năng sống, cơ thể ở dạng khảm với hai dòng tế bào 46/47.

+ Nếu hiện tượng không phân ly xảy ra nhiều lần trong quá trình phân cắt sẽ tạo cơ thể khảm phức tạp hơn.



Hình 2.28. Sự không phân ly của nhiễm sắc thể trong giảm phân

- Thất lạc nhiễm sắc thể

Trong chu kỳ tế bào, ở kỳ sau nếu một nhiễm sắc thể nào đó không bám được vào thoi vô sắc, không di chuyển được về cực tế bào, nằm lơ lửng ở tế bào chất, rồi bị tiêu biến đi, do vậy một tế bào con bị thiếu một nhiễm sắc thể. Hiện tượng này có thể xảy ra trong giảm phân hoặc xảy ra trong quá trình phân cắt của hợp tử, có thể xảy ra với nhiễm sắc thể thường hoặc nhiễm sắc thể giới tính.

2.2. Đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể

Để hiểu biết về cơ chế và sự tạo thành các kiểu rối loạn cấu trúc nhiễm sắc thể cần nắm ba nguyên tắc cơ bản sau đây:

- Giai đoạn tế bào phân chia chỉ chiếm một thời gian ngắn trong chu kỳ tế bào, vì thế phần lớn các tác động lên nhiễm sắc thể xảy ra ở giai đoạn gian kỳ.
- Các dạng cấu trúc lại của nhiễm sắc thể đều khởi đầu bằng sự đứt gãy của nhiễm sắc thể.
- Hai đầu mút của nhiễm sắc thể có tính chất bền vững, tính chất này đảm bảo sự ổn định của bộ nhiễm sắc thể về số lượng và hình thái. Sau khi nhiễm sắc thể bị đứt, các đoạn đứt lại thường nối lại với nhau đúng như cũ, chỉ có một số nhỏ tạo nên các nhiễm sắc thể cấu trúc lại.

Đột biến cấu trúc nhiễm sắc thể được chia thành hai kiểu: rối loạn cấu trúc kiểu chromatid và rối loạn cấu trúc kiểu nhiễm sắc thể.

2.2.1. Rối loạn cấu trúc kiểu chromatid

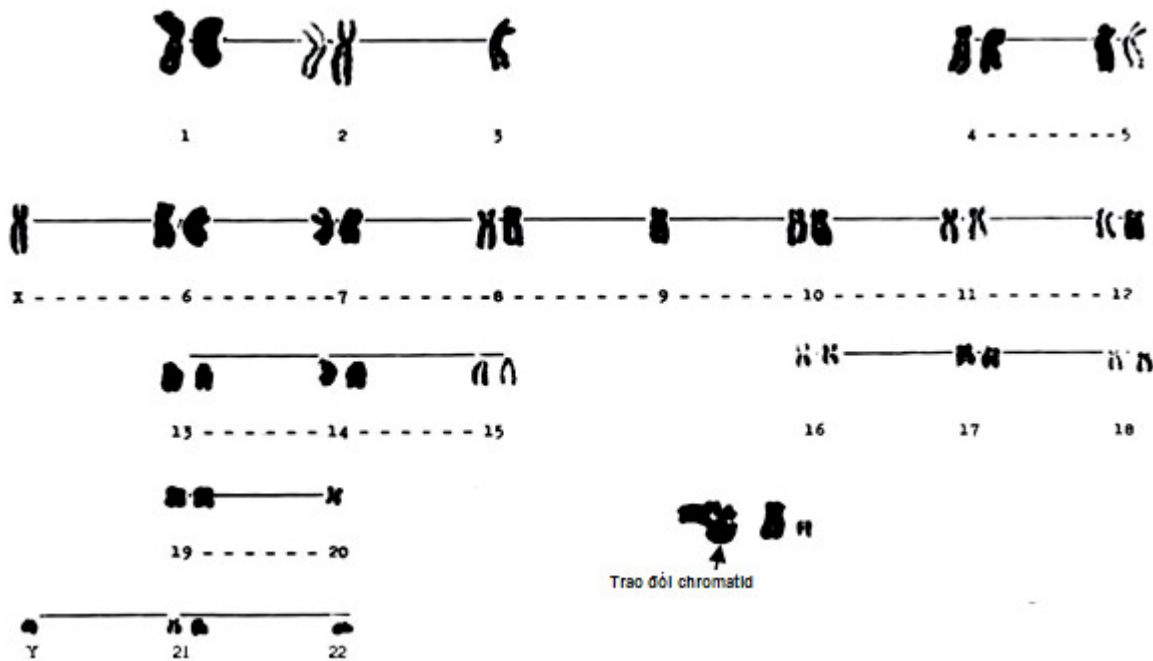
Rối loạn cấu trúc kiểu chromatid biểu hiện trên một chromatid của nhiễm sắc thể, được hình thành do sự tác động vào nhiễm sắc thể khi nhiễm sắc thể đã nhân đôi (giai đoạn S hoặc G2 trong chu kỳ tế bào).

- Có ba dạng rối loạn kiểu chromatid:

2.2.1.1. *Khuyết màu đơn (gap)*: một vị trí nào đó của một chromatid không bắt màu. Độ lớn của chỗ nhạt thường không vượt quá đường kính của chromatid.

2.2.1.2. *Đứt đơn (break)*: một đoạn của một chromatid bị đứt, phần bị đứt tách ra xa phần chromatid còn lại và thường lệch trục với phần còn lại.

2.2.1.3. *Trao đổi chromatid (chromatid exchanges)*: các nhiễm sắc thể có hai hoặc nhiều chromatid bị đứt, các chromatid bị đứt ghép lại với nhau tạo thành hình ba cánh hoặc hình bốn cánh.



Hình 2.29. Trao đổi chromatid

- Khuyết đơn và đứt đơn là các dạng rối loạn có thể gặp ở nhiễm sắc thể của một số người bình thường. Dạng trao đổi chromatid rất hiếm gặp ở người bình thường.

Dạng đứt đơn ở chu kỳ tế bào trước có thể tạo thành một nhiễm sắc thể mất đoạn ở chu kỳ tế bào tiếp theo.

2.2.2. Rối loạn cấu trúc kiểu nhiễm sắc thể

Rối loạn cấu trúc kiểu nhiễm sắc thể là những rối loạn do sự đứt gãy trên cả hai chromatid của nhiễm sắc thể, xảy ra khi nhiễm sắc thể chưa nhân đôi ở giai đoạn G_1 hoặc thời kỳ sớm của S, hoặc đứt gãy nhiễm sắc thể xảy ra ở G_2 .

Có các dạng rối loạn cấu trúc kiểu nhiễm sắc thể sau đây:

2.2.2.1. *Khuyết màu kép (isogap)*: sự không bắt màu xảy ra ở cùng vị trí trên cả hai chromatid của cùng một nhiễm sắc thể.

2.2.2.2. *Đứt kép (isobreak)*: đứt xảy ra ở cả hai chromatid ở vị trí giống nhau.

Tùy theo số lần đứt, vị trí đứt trên một, hai hoặc ba nhiễm sắc thể mà hình thành các dạng rối loạn nhiễm sắc thể cấu trúc lại.

2.2.2.3. *Mất đoạn (thiếu đoạn)*

Mất đoạn là hiện tượng nhiễm sắc thể bị thiếu một đoạn. Có hai kiểu mất đoạn: mất đoạn cuối và mất đoạn giữa.

- Mất đoạn cuối: sinh ra do đứt một chỗ của các nhánh. Đoạn không tâm bị tiêu đi. Mất đoạn cuối có thể xảy ra ở hai nhánh ở phần cuối. Hai đoạn không tâm sẽ tiêu tan đi, còn phần mang tâm sẽ uốn

cong lại, nối với nhau tạo nên nhiễm sắc thể hình vòng có tâm (ring).

- Mất đoạn giữa: do hai chỗ đứt xảy ra cùng ở một nhánh. Đoạn nằm giữa hai chỗ đứt bị tiêu tan, hoặc tạo thành vòng không tâm. Hai phần còn lại của nhiễm sắc thể nối lại với nhau tại chỗ đứt hình thành một nhiễm sắc thể mới bị mất đoạn.

Các nhiễm sắc thể mất đoạn ngắn hơn so với nhiễm sắc thể đồng dạng của nó, các gen ở đoạn đứt bị mất đi, do vậy chỉ có các alen đơn độc ở đoạn còn lại trên nhiễm sắc thể nguyên vẹn. Chính vì vậy những gen lặn ở đoạn đó biểu hiện được tính chất của mình.

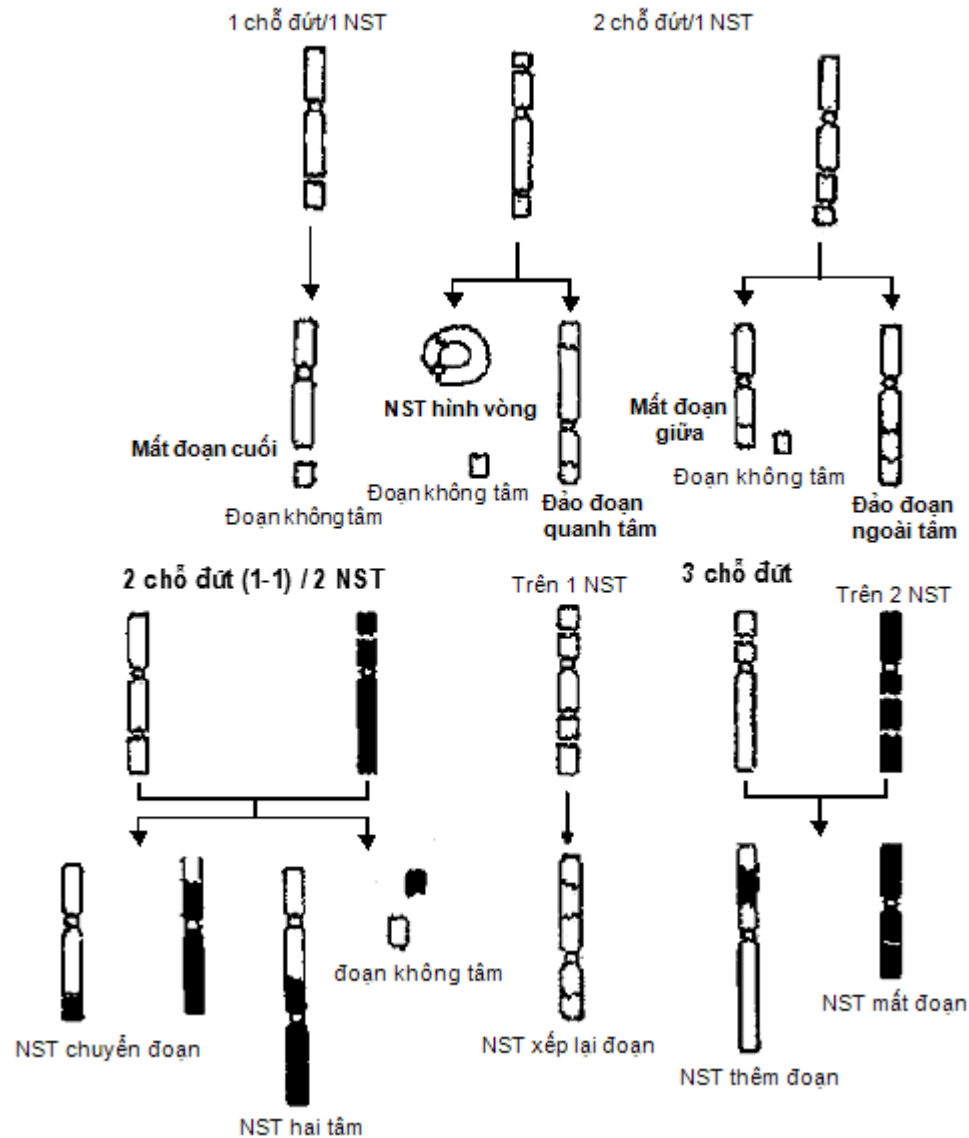
2.2.2.4. Đảo đoạn

Đảo đoạn là hiện tượng một đoạn nhiễm sắc thể bị đứt ở hai chỗ, đoạn bị đứt quay 180^0 và hai móm đứt nối lại theo trật tự mới. Có hai kiểu đảo đoạn.

- Đảo đoạn ngoài tâm: hai chỗ đứt xảy ra trên cùng một nhánh; sau khi nối lại chiều dài và vị trí của tâm nhiễm sắc thể vẫn như cũ, do vậy khó nhận ra được. Tuy nhiên với các kỹ thuật hiện bằng trên nhiễm sắc thể, người ta đã xác định chính xác nhiều trường hợp đảo đoạn.

- Đảo đoạn quanh tâm: hai chỗ đứt xảy ra trên hai nhánh ở hai bên tâm. Nếu hai chỗ đứt cách tâm không bằng nhau thì nhiễm sắc thể mới được tạo thành có chỉ số tâm thay đổi.

Những trường hợp đảo đoạn vẫn giữ đủ số gen, nhưng trật tự sắp xếp của những ổ gen bị thay đổi ở phần đảo đoạn. Để các phần tương ứng với nhau của hai nhiễm sắc thể tương đồng khi giảm phân, nhiễm sắc thể có đảo đoạn phải tạo thành vòng, còn nhiễm sắc thể kia tạo thành một chỗ lồi bao bọc vòng đó.



Hình 2.30. Các dạng nhiễm sắc thể cấu trúc lại sau khi bị đứt

2.2.2.5. Nhiễm sắc thể hai tâm

Hai nhiễm sắc thể bị đứt ở hai chỗ, các phần không tâm bị tiêu đi còn hai phần có tâm nối lại với nhau tạo nên nhiễm sắc thể hai tâm.

Trong một số trường hợp bị nhiễm xạ thường gặp nhiễm sắc thể hai tâm.

Nếu có ba chỗ đứt trên ba nhiễm sắc thể khác nhau, ba phần có tâm của ba nhiễm sắc thể đó nối với nhau tạo nên nhiễm sắc thể ba tâm; đây là trường hợp rất hiếm gặp.

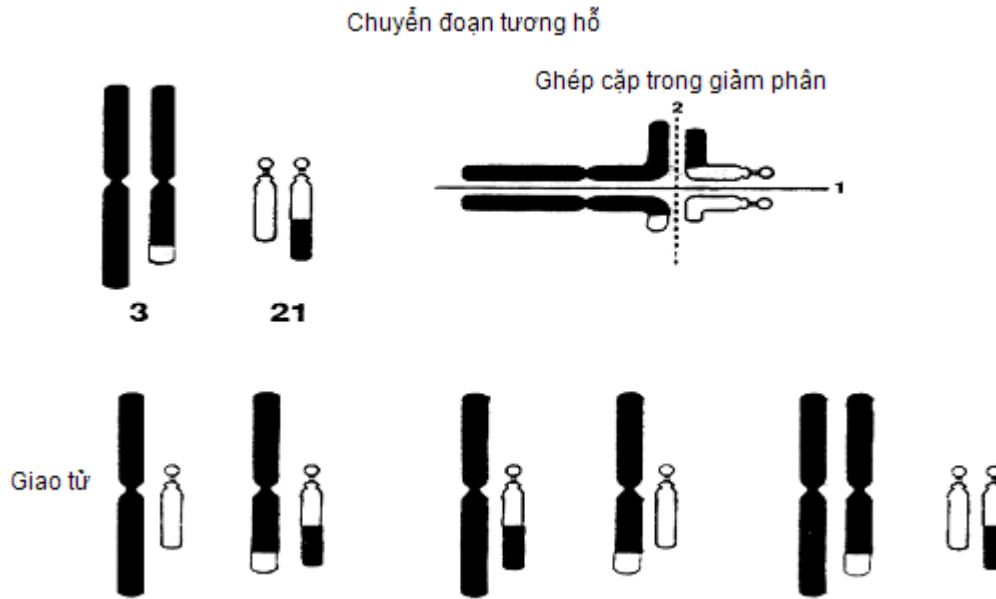
2.2.2.6. Chuyển đoạn

Chuyển đoạn là hiện tượng trao đổi các đoạn của nhiễm sắc thể. Có hai kiểu chuyển đoạn:

- **Chuyển đoạn tương hỗ:** là hiện tượng trao đổi đoạn giữa hai nhiễm sắc thể. Mỗi nhiễm sắc thể đứt một chỗ, trao đổi đoạn đứt cho nhau và hình thành hai nhiễm sắc thể mới. Cả hai đều thay đổi hình thái nếu những đoạn trao đổi khác nhau về kích thước.

Trong lần phân chia thứ nhất giảm phân hai nhiễm sắc thể chuyển đoạn tiếp hợp với hai nhiễm sắc thể tương đồng nguyên vẹn để cho tất cả những phần tương ứng tiếp hợp đúng với nhau chúng phải

ghép thành một hình ảnh đặc biệt gọi là chữ thập chuyển đoạn.



Hình 2.31. Hình chữ thập chuyển đoạn trong giảm phân I

và một vài loại giao tử được tạo thành.

Trong kỳ sau của giảm phân, từ chữ thập chuyển đoạn có thể xảy ra bảy kiểu phân ly nhiễm sắc thể sinh ra 14 loại giao tử.

Chuyển đoạn tương hỗ có các đặc điểm chính sau đây:

- + Số lượng nhiễm sắc thể không thay đổi.
- + Trong bộ nhiễm sắc thể thường có hai nhiễm sắc thể không bình thường.
- + Tổng số chất liệu di truyền của hai nhiễm sắc thể mới tạo thành không bị mất mà chỉ chuyển vị trí, như vậy tế bào và cơ thể mang hai nhiễm sắc thể chuyển đoạn này ở trạng thái cân bằng, và như thế các thay đổi kiểu hình không quan sát được.

+ Những người mang nhiễm sắc thể chuyển đoạn tương hỗ có thể truyền cho con nhiễm sắc thể chuyển đoạn.

+ Chuyển đoạn kiểu hòa hợp tâm

Chuyển đoạn kiểu hòa hợp tâm chỉ xảy ra đối với các nhiễm sắc thể tâm đầu.

Trong kiểu chuyển đoạn này hai nhiễm sắc thể bị đứt ngang qua miền gần tâm, các đoạn đứt chuyển đoạn cho nhau, kết quả tạo nên một nhiễm sắc thể bất thường và một nhiễm sắc thể rất nhỏ, nhiễm sắc thể nhỏ này bị tiêu biến đi, do vậy chất liệu di truyền của tế bào cũng bị mất theo.

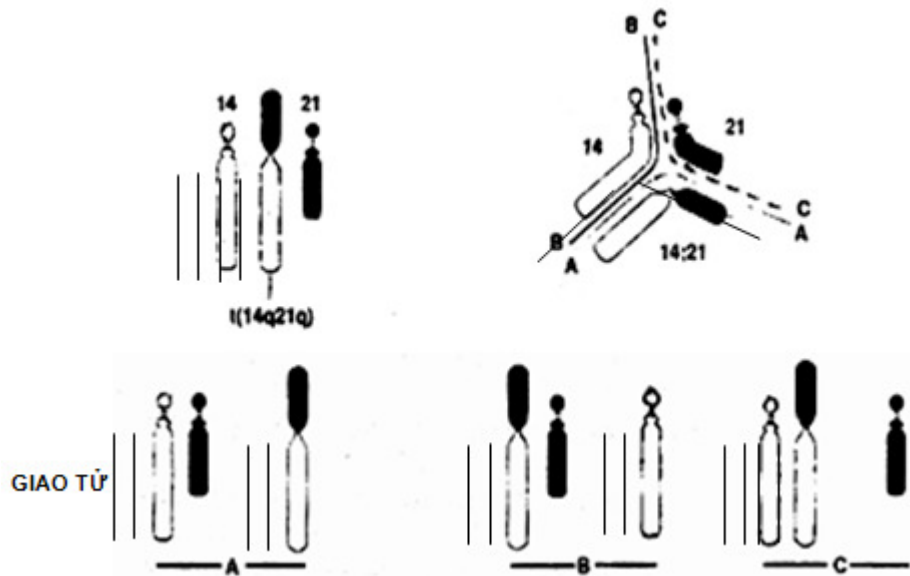
Trong kỳ đầu của giảm phân, nhiễm sắc thể chuyển đoạn sắp xếp với hai nhiễm sắc thể tương đồng tạo thành hình ba cánh. Từ đó có 4 kiểu phân ly tạo nên 8 loại giao tử.

Chuyển đoạn hòa hợp tâm có các đặc điểm chính sau:

- + Các tế bào ở kỳ giữa chỉ có 45 nhiễm sắc thể.
- + Trong bộ nhiễm sắc thể thiếu hai nhiễm sắc thể tâm đầu, thay thế vào đó là một nhiễm sắc thể tâm giữa lớn (trường hợp chuyển đoạn D/D) hoặc một nhiễm sắc thể tâm lệch tương tự như các nhiễm sắc thể của nhóm C (trường hợp chuyển đoạn D/G), hoặc một nhiễm sắc thể tâm giữa nhỏ (trường hợp

chuyển đoạn G/G).

+ Những người mang nhiễm sắc thể chuyển đoạn hòa hợp tâm thường có kiểu hình bình thường. Điều này cho phép nghĩ rằng: các nhánh gần của nhiễm sắc thể tâm đầu không chứa các gen quan trọng.



Hình 2.32. Chuyển đoạn hòa nhập tâm

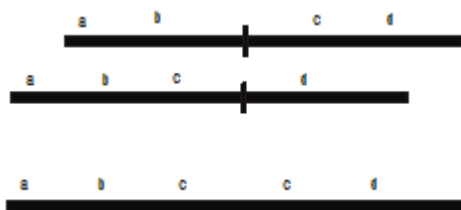
- Các kiểu chuyển đoạn khác

Ngoài hai kiểu chuyển đoạn chính kể trên, đôi khi người ta còn sắp xếp vào chuyển đoạn sự thêm đoạn nhiễm sắc thể: một nhiễm sắc thể bị đứt ở hai chỗ trên cùng một nhánh, trên một nhiễm sắc thể khác có một chỗ đứt sau đó có sự chuyển đoạn bị đứt sang nhiễm sắc thể kia nhưng không có hiện tượng trao đổi ngược lại (chuyển đoạn không tương hỗ), do đó một nhiễm sắc thể có thêm một đoạn, một nhiễm sắc thể bị mất một đoạn.

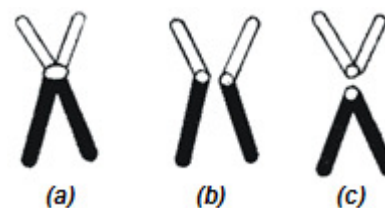
2.2.2.7. Nhân đoạn

Nhân đoạn là hiện tượng một đoạn nào đó của nhiễm sắc thể được tăng lên hai hoặc ba lần. Có hai loại nhân đoạn:

Nhân đoạn nguyên phát: xảy ra khi ghép đôi và bắt chéo giữa hai nhiễm sắc thể tương đồng trong kỳ đầu của giảm phân, các locus trên nhiễm sắc thể tương đồng xếp không tương ứng với nhau do vậy có sự chuyển một đoạn nào đó của nhiễm sắc thể này sang nhiễm sắc thể kia.



Hình 2.33. Nhân đoạn nguyên phát



Hình 2.34. Nhiễm sắc thể đều

a. Hai nhánh NST còn dính với nhau ở tâm;
b. NST phân đôi theo chiều dọc; c. Các NST đều

Nhân đoạn thứ phát: xảy ra ở nhiễm sắc thể đã đảo đoạn khi ghép đôi và bắt chéo giữa các nhiễm sắc thể tương đồng ở kỳ đầu của giảm phân. Do không có sự ăn khớp của một số gen giữa hai nhiễm sắc

thể đó nên có sự chuyển đoạn của nhiễm sắc thể này sang nhiễm sắc thể kia.

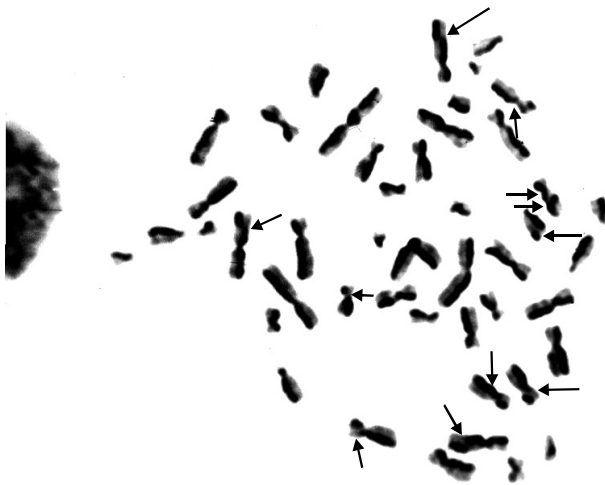
2.2.2.8. Nhiễm sắc thể đều

Bình thường thì hai chromatid sẽ tách dọc nốt phân tâm để tạo thành hai nhiễm sắc thể, nhưng trong trường hợp này phần tâm lại tách theo chiều thẳng góc với chiều dọc của chromatid. Kết quả sẽ hình thành hai nhiễm sắc thể bất thường, mỗi nhiễm sắc thể này có hai nhánh đối xứng hoàn toàn với nhau về kích thước cũng như về nội dung gọi là nhiễm sắc thể đều. Kết quả này cũng được coi như là có sự nhân đôi một nhánh và mất đi nhánh thứ hai.

Trên đây chúng tôi đã điếm qua một số rối loạn cấu trúc nhiễm sắc thể. Tùy theo kiểu rối loạn, có thể chia ra hai dạng: các rối loạn của các nhiễm sắc thể có nhiều tâm, các đoạn không tâm hoặc các nhiễm sắc thể hình vòng không có khả năng tham gia vào các lần phân bào tiếp theo, vì thế được gọi là nhiễm sắc thể rối loạn dạng không bền vững. Các nhiễm sắc thể bị rối loạn nhưng vẫn có một tâm, có thể tiếp tục tham gia vào các lần phân bào tiếp theo, vì thế được gọi là nhiễm sắc thể rối loạn dạng bền vững.

2.3. Trao đổi chromatid chị em (Sister Chromatid Exchanges = SCE)

Trao đổi chromatid chị em thể hiện sự biến đổi bên trong nhiễm sắc thể ở các locus tương đồng hoặc không tương đồng của hai chromatid bao gồm hai quá trình đứt và nối lại từng phần của hai



Hình 2.35. Trao đổi chromatid chị em

chromatid chị em. Vì vậy có hai loại đó là trao đổi chromatid chị em cân bằng và trao đổi chromatid chị em không cân bằng.

Trao đổi chromatid chị em cân bằng là sự trao đổi (đứt và nối) của chromatid xảy ra ở vị trí tương đồng giữa hai chromatid.

Trao đổi chromatid chị em không cân bằng là sự trao đổi (đứt và nối) của chromatid xảy ra ở vị trí không tương đồng giữa hai chromatid.

Bằng cách dùng 5 - bromodeoxyuridin (5 - BrdU) và phương pháp nhuộm phân biệt hai chromatid chị em sau đó quan sát nhiễm sắc thể ở kính hiển vi quang học có thể phát hiện những trao đổi đoạn của hai chromatid chị em.

Trao đổi chromatid chị em có thể gặp ở tế bào của người bình thường với một tần suất tự nhiên xác định. Tác động của một số tác nhân gây đột biến làm tăng tần suất trao đổi chromatid chị em, vì vậy

đánh giá sự trao đổi chromatid chị em được sử dụng như một test nhạy cảm để xác định khả năng gây đột biến của một số tác nhân.

3. ĐỘT BIẾN GEN

Gen là một đoạn của phân tử ADN có chức năng di truyền là đơn vị cơ sở của thông tin di truyền. Gen có đặc điểm:

- Có khả năng tự nhân đôi, đảm bảo sự di truyền bền vững.
- Có khả năng phiên mã đảm bảo tính đặc trưng của các phân tử protein được tạo thành.
- Có thể bị đột biến.

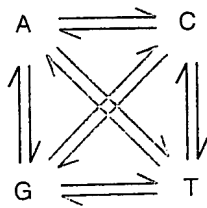
3.1. Cơ chế đột biến gen

Đột biến gen là những biến đổi trong cấu trúc của gen. Do tác động của các tác nhân gây đột biến, trong một số trường hợp một hoặc một số cặp nucleotid bị biến đổi dẫn đến đột biến gen.

3.1.1. Các dạng biến đổi nucleotid

3.1.1.1. Thay thế nucleotid: thường hay gặp sự thay thế của một bazơ này bằng một bazơ khác, nhưng cũng có thể gặp sự thay thế một nhóm bazơ đồng thời để tạo nên sự biến đổi gen. Sự thay thế này có thể gặp ở ADN mã hóa cũng có thể gặp ở ADN không mã hóa.

Sự thay thế này có thể là sự thay thế cùng loại hoặc sự thay thế khác loại:



Sơ đồ sự thay thế các

- Sự thay thế cùng loại: sự thay thế của bazơ nhân pyrimidin (C hoặc T) cũng bằng bazơ nhân pyrimidin, hoặc sự thay thế của bazơ nhân purin (G hoặc A) cũng bằng bazơ nhân purin.

- Sự thay thế khác loại: là sự thay thế của bazơ nhân pyrimidin bằng bazơ nhân purin và ngược lại.

Sự thay thế cùng loại hay gặp hơn so với sự thay thế khác loại đặc biệt là ở ADN ty thể.

Tùy theo thay thế bazơ nào trong mã bộ 3 mà có thể dẫn đến sự thay thế một acid amin này bằng một acid amin khác, hay sự thay thế đó không làm thay đổi acid amin.

3.1.1.2. Đảo nucleotid: là hiện tượng đảo vị trí của các nucleotid trong một đơn vị mã, do vậy cũng làm thay đổi một acid amin này bằng một acid amin khác.

Trường hợp đơn giản nhất là khi thay thế hoặc đảo một nucleotid, đó là trường hợp đột biến điểm (point mutation).

3.1.1.3. Mất nucleotid: mất nucleotid là hiện tượng một hoặc vài nucleotid bị mất. Thường hay xảy ra ở vùng ADN không mã hóa, cũng có thể xảy ra ở vùng ADN mã hóa gây ra hiện tượng đột biến khung.

Mất đoạn lớn hiếm gặp hơn nhưng cũng có thể gặp ở những vùng chứa những đoạn ADN lặp lại ngẫu nhiên hoặc ở các đoạn lặp lại xen vào.

3.1.1.4. Thêm nucleotid: thêm nucleotid là hiện tượng một hoặc một vài nucleotid được thêm vào trình tự bình thường của một chuỗi nucleotid.

Trong trường hợp một hoặc hai nucleotid bị mất hoặc thêm vào chuỗi nucleotid bình thường sẽ làm thay đổi các bộ ba mã hóa từ vị trí bị mất hoặc thêm nucleotid, do vậy cấu tạo của chuỗi polypeptid bị thay đổi từ chỗ có nucleotid mất hoặc thêm vào. Loại đột biến này được gọi là đột biến khung (frameshift mutation). Trong trường hợp một bộ ba hoặc bội số của bộ ba nucleotid bị mất đi hoặc được thêm vào sẽ dẫn đến mất đi hoặc thêm vào một hoặc một vài acid amin của chuỗi polypeptid, trình tự các acid amin tiếp sau đó không bị thay đổi.

Đột biến điểm hay xảy ra ở những vùng CpG (hot spot). CpG (carbon ở vị trí 3' của methyl cytosin liên kết với guanin ở vị trí carbon 5' bằng liên kết phosphodiester).

Trong ADN ở động vật có xương sống chuỗi CpG là một dấu hiệu cho sự methyl hóa bởi một enzym ADN methyltransferase thuộc cytosin bằng cách thêm vào nhóm methyl ở vị trí carbon số 5' của cytosin. Kết quả là 5 - methyl cytosin là một chất không bền vững dễ bị mất nhóm amin (deamination) để thành thymidin biến CpG thành TpG bền vững hơn (và thành CpA ở mạch đối diện).

Khoảng 3% cytosin của ADN người bị methyl hóa và hay xảy ra ở CpG, cũng có một tỷ lệ rất nhỏ xảy ra ở CpNpG (N là một nucleotid bất kỳ).

3.1.2. Biến đổi chất lượng hoặc số lượng protein

3.1.2.1. Đột biến chất lượng protein

Trình tự các acid amin trong chuỗi polypeptid là do trình tự các nucleotid trong gen cấu trúc quy định. Đột biến gen cấu trúc dẫn đến thay đổi chất lượng protein, từ đó dẫn đến biến đổi protein tạo thành. Ví dụ: chuỗi β globin có 146 acid amin, ở chuỗi β globin bình thường acid amin thứ 26 là acid glutamic với mã là GAA hoặc GAG, nếu nucleotid thứ hai trong mã đổi A thành U ($A \rightarrow U$), do vậy mã đổi thành GUA hoặc GUG, mã hóa lysin, protein được tạo thành là hemoglobin E.

3.1.2.2. Đột biến số lượng protein

Số lượng protein được tổng hợp do gen ở vùng điều chỉnh quy định. Đột biến gen ở vùng điều chỉnh dẫn đến việc tổng hợp protein bị rối loạn: kìm hãm tổng hợp chuỗi polypeptid này, kích thích tổng hợp chuỗi polypeptid kia, do vậy hình thành protein bất thường. Ví dụ: sự kìm hãm tổng hợp chuỗi β , kích thích tổng hợp chuỗi γ ở người trưởng thành dẫn đến sự có mặt bất thường về số lượng hemoglobin F ($\alpha_2\gamma_2$) ở người trưởng thành. Đây là một nguyên nhân của bệnh β thalassemia.

3.2. Biểu hiện của gen đột biến

- Tùy theo tương quan giữa hai alen của gen mà có các trường hợp sau:

- + Từ gen trội (A) đột biến thành alen lặn a.
- + Từ gen lặn (a) đột biến thành alen trội A.

Tùy theo mức độ biểu hiện của gen đột biến đó, có thể biểu hiện thành kiểu hình hay không và biểu hiện ở mức độ nào.

- Dựa vào sự biểu hiện của gen, có thể chia làm hai loại

+ Đột biến im lặng là đột biến không làm thay đổi sản phẩm gen.

+ Đột biến không im lặng là đột biến có sự thay đổi chuỗi polypeptid hoặc chức năng của ARN, làm cho một hoặc nhiều thành phần acid amin của chuỗi bị thay đổi có thể thêm hoặc bớt vào sản phẩm.

Những đột biến không im lặng có thể là những đột biến vô nghĩa hoặc những đột biến sai nghĩa.

Đột biến vô nghĩa, đột biến điểm làm các bộ ba mã hóa acid amin thành một trong ba bộ mã kết thúc (mã vô nghĩa): UAA, UGA, UAG

Đột biến sai nghĩa là những đột biến mà dẫn đến có sự thay thế acid amin này bằng acid amin khác.

Những đột biến trên luôn liên quan với sự giảm mạnh chức năng gen, là áp lực cho chọn lọc bởi vì hiếm khi chúng là bình thường.

Các dạng đột biến trên cũng có thể xảy ra đối với bộ ba mã mở đầu, mã kết thúc hoặc ở vị trí cắt ghép các exon – intron.

3.3. Đột biến ở các loại tế bào

- Ở tế bào sinh dục (giao tử): dạng đột biến này có thể truyền từ bố mẹ sang thế hệ con. Tùy theo đột biến gen trội, lặn, trội không hoàn toàn mà biểu hiện hay không ở thế hệ con.

- Ở tế bào sinh dưỡng (soma): hậu quả của dạng đột biến này chỉ thể hiện ở cá thể bị đột biến, không truyền cho thế hệ sau. Tùy theo đột biến gen trội, lặn, trội không hoàn toàn mà có biểu hiện hay không biểu hiện ra kiểu hình. Hậu quả cũng còn phụ thuộc vào độ biểu hiện của gen và tác động của môi trường.

TỰ LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày định nghĩa, cơ chế gây đa bội
2. Trình bày định nghĩa, phân loại, cơ chế gây lệch bội
3. Trình bày rối loạn cấu trúc kiểu chromatid
4. Trình bày rối loạn cấu trúc kiểu NST loại mất đoạn, đảo đoạn, nhân đoạn
5. Trình bày rối loạn cấu trúc kiểu NST loại chuyển đoạn
6. Trình bày hiện tượng trao đổi chromatid chị em
7. Trình bày cơ chế gây đột biến gen (các dạng biến đổi nucleotid)
8. Trình bày sự biểu hiện của gen đột biến